

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

SYNTHÈSE CHIMIQUE ET ACTIVITÉ BIOLOGIQUE D'UNE SÉRIE DE DÉRIVÉS
AMIDES EN POSITION 7 α DE LA TESTOSTÉRONNE

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE EXTENSIONNÉE DE
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

PAR
NATHALIE MORIN

AOÛT 2012

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier le Dr Gervais Bérubé, mon directeur de recherche et professeur à l'Université du Québec à Trois-Rivières, de m'avoir si bien guidée et de m'avoir permis de prendre confiance en moi dans un laboratoire de recherche. Je le remercie pour son dévouement et ses nombreux conseils fortement appréciés.

Je remercie également mon codirecteur de recherche, le Dr Éric Asselin, qui m'a permis de mieux comprendre le côté biologique de mon projet. Je remercie aussi tous les membres de son équipe qui ont fait les analyses biologiques de mes molécules principalement Valérie Leblanc et Kevin Brasseur.

Je remercie Caroline Descôteaux, étudiante au doctorat dans le laboratoire de Gervais Bérubé, pour ses nombreux conseils et pour sa très grande patience. Merci à Jocelyn Bouchard, technicien, toujours présent lorsqu'un problème technique survient. Merci à Catarina Leoto Franco Pio pour son aide très apprécié. Je remercie également Julie Bruneau pour son aide.

Pour le support financier, je tiens à remercier la Fondation de l'UQTR et le GROEM pour m'avoir accordé des bourses d'études.

Pour terminer, je tiens à remercier tous mes amis qui m'ont soutenue et qui ont su me motiver, Kathleen, Jihane et Émilie. Merci à mes parents, France et Pierre, d'être présents dans ma vie et merci à mon copain David pour sa compréhension et son soutien.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	ii
LISTE DES FIGURES ET TABLEAU	v
LISTE DES SPECTRES.....	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES	x
RÉSUMÉ	xii
CHAPITRE I	
INTRODUCTION	1
1.1 Le cancer	1
1.1.1 Le cancer de la prostate	2
1.1.2 La prostate.....	4
1.1.3 Traitements du cancer confiné à la prostate	5
1.1.4 Traitements du cancer de la prostate avancé	7
1.2 Androgènes	10
1.2.1 Récepteur des androgènes	11
1.2.2 Antiandrogènes	13
1.3 Les moutardes azotées : agents alkylants	15
1.4 Objectif : le ciblage thérapeutique	19
1.4.1 Tests biologiques.....	21
CHAPITRE II	
SYNTHÈSES ET RÉSULTATS.....	23
2.1 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (6).....	23
2.2 Formation des amides.....	27
2.3 Synthèse de composés hybrides entre la testostérone et une moutarde azotée protégés en position 17	28
2.4 Déprotection de la fonction ester en 17 et synthèse d'amides.....	35

CHAPITRE III	
TESTS BIOLOGIQUES	40
3.1 Résultats des tests biologiques in vitro	40
CHAPITRE IV	
CONCLUSION	43
CHAPITRE V	
MÉTHODOLOGIE	45
5.1 Générale	45
5.2 Synthèse du diacétate de 3,5-androstadièn-3,17 β -diol (2)	47
5.3 Synthèse de l'acétate de 4,6-androstadièn-17 β -ol-3-one (3)	48
5.4 Synthèse de l'acétate de 7 α -allyl-4-androstèn-17 β -ol-3-one (4)	49
5.5 Synthèse de l'ester tert-butylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (5)	50
5.6 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (6)	51
5.7 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (12)	52
5.8 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3 α -one-7-yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (13)	53
5.9 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-chloroéthylamide (14)	54
5.10 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridylméthylamide (16)	56
5.11 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridyléthylamide (17)	57
5.12 Synthèse de l'ester méthylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (18)	58
5.13 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (19)	59
5.14 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (20)	60
5.15 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (21)	62
APPENDICE A	
SPECTRES RMN- ^1H ET RMN- ^{13}C	64
RÉFÉRENCES	90

LISTE DES FIGURES ET TABLEAU

Figure	Page
1.1 Tumeur cancéreuse dans la partie externe de la prostate (Kirk et Smith, 2007)	3
1.2 L'anatomie de l'homme	4
1.3 Médicaments pour la chimiothérapie contre le cancer de la prostate	9
1.4 Testostérone et dihydrotestostérone (DHT).....	10
1.5 La testostérone et ses modes d'action (modifiée de Gao, Kim et Dalton, 2006)	11
1.6 Site des liaisons de la testostérone dans le récepteur des androgènes	11
1.7 Récepteur des androgènes (modifiée de Gao, Kim et Dalton, 2006).....	12
1.8 Mécanisme d'action schématisé du récepteur des androgènes	13
1.9 Acétate de cyprotérone (Cyprostat)	14
1.10 Antiandrogènes non-stéroïdiens	15
1.11 Chlorméthine et chlorambucil.....	16
1.12 Mécanisme d'action schématisé du chlorméthine (agent alkylant) (modifiée de Graham, 2005)	17
1.13 Les trois mécanismes d'action des agents alkylants (Ralhan et Kaur, 2007).....	18

1.14	Les différentes classes d'agents alkylants	18
1.15	Molécules VP-128, CD-38, JPM-39 et estradiol-chlorambucil	19
1.16	Analyse rétrosynthétique envisagée pour la fabrication des amides	21
2.1	Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (6) à partir de la testostérone (1).....	23
2.2	Synthèse du diacétate de 3,5-androstadièn-3,17 β -diol (2)	24
2.3	Synthèse du 4,6-androstadièn-17 β -ol-3-one (3)	25
2.4	Synthèse du 7 α -allyl-4-androstèn-17 β -ol-3-one (4)	25
2.5	Synthèse de l'ester tert-butylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (5)	26
2.6	Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (6).....	26
2.7	Mécanisme de la réaction d'un acide carboxylique avec du DCC et HOBt (modifiée de Marder et Albericio, 2003)	27
2.8	Synthèse des amides 12 à 17 protégés en position 17.....	29
2.9	Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (12)	30
2.10	Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (13).....	30
2.11	Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-chloroéthylamide (14).....	31
2.12	Synthèse de l'acide 4-(4-androstèn-17-acétoxy-3-one-7-yl)-but-2-énoïque N-N-bis-2-chloroéthylamide (15)	32
2.13	Première méthode de synthèse de 15 avec le chlorure d'oxalyle	33

2.14	Deuxième méthode de synthèse de 15 avec le chlorure de thionyle	33
2.15	Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridylmethyamide (16)	34
2.16	Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridyléthylamide (17)	35
2.17	Synthèse de l'ester 18 , de l'acide 19 et des amides 20 et 21 déprotégés en position 17	36
2.18	Synthèse de l'ester méthylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (18)	36
2.19	Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (19)	37
2.20	Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (20)	38
2.21	Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (21)	39
3.1	Molécule correspondant au tableau 3.1	41

Tableau

3.1	Valeurs des IC ₅₀ des dérivés de la testostérone sur les lignées cellulaires de la prostate; LNCaP (AR ⁺) et PC3 (AR ⁻)	42
-----	--	----

LISTE DES SPECTRES

Spectre	Page
A.1 RMN- ¹ H du diacétate de 3,5-androstadièn-3,17β-diol (2)	65
A.2 RMN- ¹ H de l'acétate de 4,6-androstadièn-17β-ol-3-one (3).....	66
A.3 RMN- ¹ H de l'acétate de 7α-allyl-4-androstèn-17β-ol-3-one (4).....	67
A.4 RMN- ¹ H de l'ester tert-butylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (5)	68
A.5 RMN- ¹ H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (6).....	69
A.6 RMN- ¹ H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (12)	70
A.7 RMN- ¹ H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (13).....	71
A.8 RMN- ¹ H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque N-2-chloroéthylamide (14).....	72
A.9 RMN- ¹ H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque N-2-pyridylméthylamide (16)	73
A.10 RMN- ¹ H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque N-2-pyridyléthylamide (17)	74
A.11 RMN- ¹ H de l'ester méthylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-hydroxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (18)	75

A.12	RMN- ¹ H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-hydroxy-3-one-7α-yl)-but-2- énoïque (19).....	76
A.13	RMN- ¹ H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-hydroxy-3-one-7α-yl)-but-2- énoïque N-2-éthanolamide (20)	77
A.14	RMN- ¹ H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-hydroxy-3-one-7α-yl)-but-2- énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (21).....	78
A.15	RMN- ¹³ C de l'ester tert-butylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β- acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (5)	79
A.16	RMN- ¹³ C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2- énoïque (6).....	80
A.17	RMN- ¹³ C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2- énoïque N-2-éthanolamide (12)	81
A.18	RMN- ¹³ C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2- énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (13).....	82
A.19	RMN- ¹³ C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2- énoïque N-2-chloroéthylamide (14).....	83
A.20	RMN- ¹³ C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2- énoïque N-2-pyridylméthylamide (16)	84
A.21	RMN- ¹³ C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2- énoïque N-2-pyridyléthylamide (17)	85
A.22	RMN- ¹³ C de l'ester méthylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β- hydroxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (18)	86
A.23	RMN- ¹³ C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-hydroxy-3-one-7α-yl)-but- 2-énoïque (19).....	87
A.24	RMN- ¹³ C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-hydroxy-3-one-7α-yl)-but- 2-énoïque N-2-éthanolamide (20)	88
A.25	RMN- ¹³ C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-hydroxy-3-one-7α-yl)-but- 2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (21).....	89

LISTE DES ABRÉVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES

ACS	American Chemical Society
ADN	Acide désoxyribonucléique
APS	Antigène prostatique spécifique
Aq.	Aqueux
Arg	Arginine
Asn	Asparagine
ATR	Réflexion total atténuée
CCM	Chromatographie sur couche mince
cm	Centimètre
d	Doublet
DCC	Dicyclohexylcarbodiimide
DHT	Dihydrotestostérone
DMF	Diméthylformamide
ERA	Élément de réponse aux androgènes
Gln	Glutamine
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
Hsp	Protéine de choc thermique
IGF	Interconversion de groupes fonctionnels
IR	Infrarouge
LH	Hormone lutéinisante
LHRH	Hormone gonadolibérine
LNCaP	Lignée cellulaire humaine d'un carcinome de ganglions lymphatiques de la prostate
MTT	Bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazoline
m	Multiplet

NBS	N-bromosuccinimide
PC3	Lignée cellulaire humaine d'un adénocarcinome prostatique de grade 4
ppm	Partie par million
RA	Récepteur des androgènes
RMN	Résonance magnétique nucléaire
s	Singulet
sl	Singulet large
SNC	Système nerveux central
SM	Spectre de masse
SMHR	Spectre de masse haute résolution
T	Testostérone
t	Triplet
Thr	Thréonine
°C	Degré Celsius
g	Gramme
h	Heure
Hz	Hertz
kDa	kilodalton
mg	Milligramme
MHz	Mégahertz
mL	Millilitre
mmol	Millimole
P	Phosphore
μM	Micromolaire
μm	Micromètre

RÉSUMÉ

En 2012, au Canada, il y a eu 26 500 hommes diagnostiqués avec un cancer de la prostate dont 4000 sont décédés. Il existe plusieurs traitements pour ce cancer, dont la chimiothérapie qui occasionne des effets secondaires importants et désagréables pour le patient. Pour contrer ces effets secondaires, un ciblage thérapeutique vers les cellules cancéreuses permettrait une action antitumorale plus précise et efficace. Le cancer de la prostate est hormono-dépendant dans 80 à 90 % des cas.

Le projet consiste à trouver un nouveau moyen d'exploiter la 7 α -allyl-testostérone pour fabriquer une série de composés originaux ayant un potentiel cytotoxique et/ou antiandrogénique. Dix nouveaux composés ont été synthétisés par une méthode originale à partir de la 7 α -allyl-testostérone. La majorité de ces composés sont des amides obtenus avec des rendements globaux variant entre 4 % et 35 % sans optimisation. Tous les composés synthétisés ont été testés sur des cellules du cancer de la prostate hormono-dépendant (LNCaP) et hormono-indépendant (PC3). Certains composés ont montré une meilleure efficacité que le chlorambucil et l'acétate de cyprotérone. L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridyléthylamide (**17**) est le plus intéressant composé synthétisé avec son IC₅₀ de 23,7 μ M pour les cellules LNCaP et de 5,8 μ M pour les cellules PC3. Avec cette activité, il possède une activité cytotoxique supérieure au chlorambucil (LNCaP : 52,1 μ M et PC3 : 55,7 μ M) sur les deux types de lignées cellulaires du cancer de la prostate. Certains de ces composés permettent d'envisager de nouvelles avenues de traitements contre les cancers de la prostate. De plus, la méthode de synthèse ouvre la voie à d'autres composés d'intérêt biologique dans le futur.

Mots clés : Synthèse, stéroïde, androgène, testostérone, cancer de la prostate, 7 α -allyl-testostérone amide

CHAPITRE I

INTRODUCTION

Plusieurs avancées ont eu lieu dans le domaine du traitement contre le cancer, mais malheureusement, il y a encore beaucoup de décès. Le nombre total de cancers augmente d'année en année avec le vieillissement de la population. En 2012, il est estimé qu'il y aura 186 400 nouveaux cas au Canada et qu'il y aura 75 700 décès. De plus, 2 Canadiens sur 5 vont souffrir du cancer dans leur vie. Les hommes sont plus susceptibles d'être atteints que les femmes avec 52 % des nouveaux cas pour les hommes. Le cancer de la prostate chez l'homme et le cancer du sein chez la femme sont les deux cancers les plus diagnostiqués. Le cancer de la prostate est estimé à 26 500 nouveaux cas et 4000 décès pour 2012 (<http://www.cancer.ca>).

1.1 Le cancer

Le cancer peut se définir par une prolifération anormale des cellules qui est causée par des altérations dans l'expression de plusieurs gènes conduisant à un déséquilibre dans la régulation de la prolifération des cellules et dans la mort cellulaire. Les cellules deviennent ainsi des cellules capables d'envahir les tissus environnants et de former des métastases. Cette prolifération forme une très grande quantité de cellules excédentaires pouvant s'étendre partout dans l'organisme. Il existe plus de 100 types différents de cancer, chacun étant différent par l'endroit de leur apparition et par le type de cellules impliquées (Ruddon, 2007).

Pour faciliter la compréhension de tous ces types de cancers, une convention a été faite pour nommer les cancers. Il y a trois catégories, les carcinomes qui sont les cancers qui se produisent dans les cellules épithéliales. Les sarcomes qui sont originaires des tissus de soutien tels les os et le cartilage. Les lymphomes et la leucémie lorsqu'il s'agit de cancer des cellules lymphatiques et ceux touchant le sang (Kleinsmith, 2006).

De plus, les cellules cancéreuses possèdent plusieurs caractéristiques très différentes des cellules saines. Comme mentionné plus haut, les cellules cancéreuses ne possèdent aucune limite de réplication. Elles possèdent des défauts dans leur matériel génétique soit avec l'ajout ou le retrait de chromosomes et des erreurs dans leurs séquences d'ADN (acide désoxyribonucléique). Elles peuvent synthétiser par elles-mêmes les facteurs de croissance, leur permettant de ne plus être dépendantes des cellules saines. Les cellules tumorales ont un problème de différenciation qui ne leur permet pas de se spécialiser et d'avoir un lien avec leurs tissus d'origines. Comme mentionné auparavant, elles sont capables de migrer par la circulation sanguine ou lymphatique dans d'autres structures ou organes que celui d'origine.

1.1.1 Le cancer de la prostate

Le cancer de la prostate est un cancer souvent asymptomatique, qui peut être détecté lors de l'examen annuel. Au début de l'évolution de la maladie, il n'y a normalement aucune douleur associée au cancer. Le manque de symptôme est dû au fait que le cancer est encore localisé et que les organes environnants n'ont pas été encore affectés. Toutefois, il y a possibilité de problème urinaire dû à l'augmentation de la masse de la prostate. La plupart des cancers restent confinés à la prostate et sont cliniquement sans importance. Il est estimé que 30 % des hommes de plus de 50 ans et que 60 à 70 % des hommes de plus de 80 ans ont un cancer latent. L'âge moyen pour être atteint d'un cancer de la prostate est de 72 ans (Pentyala *et al.*, 2000).

Plusieurs facteurs sont impliqués dans la formation d'un cancer. Les principaux étant l'âge du patient, sa race et l'hérédité. La détection du cancer de la prostate se fait normalement à l'aide du toucher rectal ou à l'aide du dosage de l'APS (antigène prostatique spécifique). Malgré le fait que le dosage à l'APS permet de détecter plus de cancer que le toucher rectal, il détecte seulement 70 % des cancers. Lorsqu'il y a un doute soit par le toucher rectal ou par le dosage de l'APS, il y a prise d'une biopsie pour vérifier la présence du cancer. Le cancer se développe normalement dans la partie externe de la glande (figure 1.1) (Kirk et Smith, 2007).

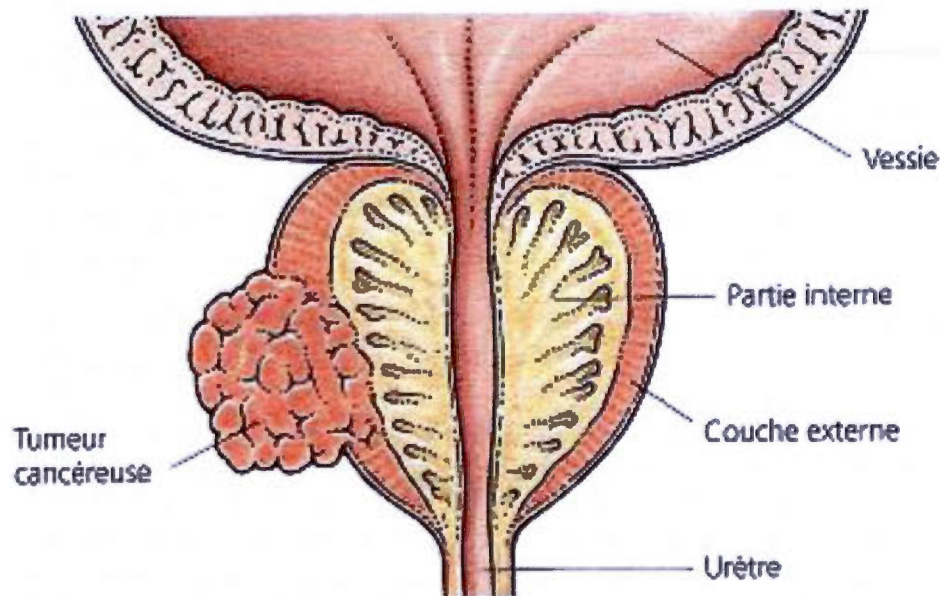


Figure 1.1 Tumeur cancéreuse dans la partie externe de la prostate (Kirk et Smith, 2007).

Il y a cinq grades et quatre stades différents pour le cancer de la prostate. Le grade va de 1 à 5 et fait référence à l'agressivité du cancer et se base sur l'aspect du tissu de la prostate. Le stade fait référence à l'étendue du cancer dans les régions avoisinantes. Il y a trois lettres utilisées, le T, N et le M qui font référence à la tumeur (T), au ganglion (N) et aux métastases (M) (Pentyala *et al.*, 2000).

1.1.2 La prostate

La prostate est une glande spécifique à l'homme. À la naissance, la prostate n'est pas plus grosse qu'un pois (Barrett, 2000). Elle se développe ensuite à l'adolescence pour atteindre la grosseur d'une châtaigne et prend encore de l'expansion dépassée l'âge de 50 ans (Zerbib et Perez, 1998). Cet élargissement peut provoquer des problèmes avec l'écoulement des urines vu son emplacement (Kirk et Smith, 2007). Elle se situe sous la vessie, proche des vésicules séminales, traversée par l'urètre et elle est bordée par le rectum à l'arrière (figure 1.2) (Saad et McCormack, 2008). La prostate a deux parties, une partie intérieure et une partie externe qui n'ont pas les mêmes maladies (Kirk et Smith, 2007).

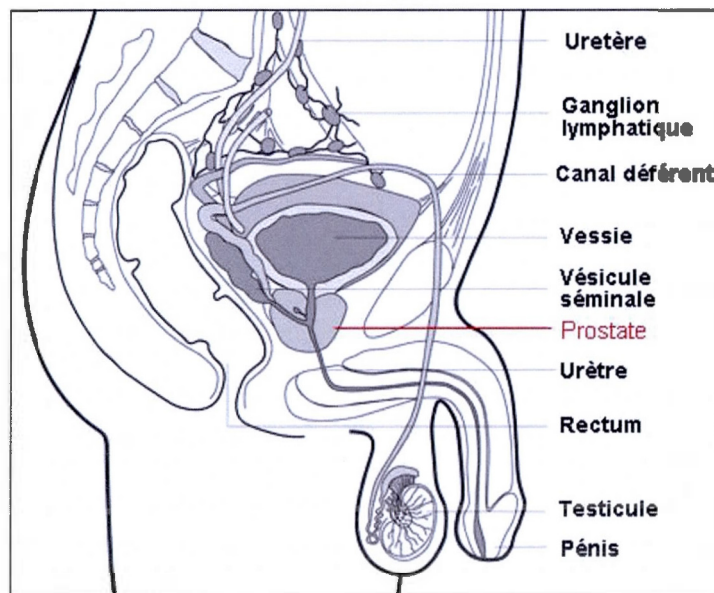


Figure 1.2 L'anatomie de l'homme
(<http://www.prostatecancer.ca/Prostate-Cancer/About-the-Prostate>).

La prostate contribue à la formation du sperme en sécrétant un liquide clair contenant des protéines, du zinc, des acides aminés, du fructose et des prostaglandines. De plus, le mélange de toutes ces substances et des spermatozoïdes se produisent dans la prostate. La prostate nécessite des hormones sécrétées par les testicules pour bien fonctionner (Saad et McCormack, 2008).

La prostate peut être atteinte de plusieurs maladies. Il y a la prostatite qui est une inflammation souvent causée par des bactéries qui peut se produire à n'importe quel âge. L'hypertrophie bénigne qui est une augmentation de la grosseur de la prostate se produit après un certain stade d'âge. Il y a le cancer qui normalement affecte les personnes plus âgées (Saad et McCormack, 2008).

La prostate produit de l'antigène prostatique spécifique (APS). L'APS est une protéinase, qui se retrouve habituellement dans les tissus de la prostate et dans le liquide séminal. Cette protéine liquéfie le sperme afin de faciliter le mouvement des spermatozoïdes. La présence d'APS dans le plasma humain permet de dépister les cancers bénins et malins (Pentyala *et al.*, 2000).

1.1.3 Traitements du cancer confiné à la prostate

Le traitement choisi dépendra du stade du cancer, du grade du cancer et du taux d'antigène prostatique spécifique (APS) (Saad et McCormack, 2008). Parfois, le médecin décide de ne pas traiter le cancer, car il est possible que le cancer évolue très lentement et que les traitements soient plus dommageables que le cancer en lui-même vu sa lente évolution (Pentyala *et al.*, 2000). Il y a plusieurs types différents de traitement du cancer de la prostate. Il y a ceux où le cancer est confiné à la prostate et il y a ceux pour un cancer avancé.

Avant de commencer les traitements, il y a la possibilité de l'observation du patient. Il s'agit d'un examen comprenant un toucher rectal et un test d'APS tous les 3 à 6 mois. Cette option est souvent utilisée lorsque le patient est âgé et à une faible espérance de vie et que la maladie ne provoque aucun symptôme. L'aspect le plus intéressant de cette méthode est l'absence d'effet secondaire sur le patient (Pentyala *et al.*, 2000).

Pour les traitements des cancers qui sont à un stade peu avancé, il y a deux choix; la prostatectomie radicale et la radiothérapie. Le choix du traitement est selon la santé du patient, les différents effets secondaires et le choix du patient.

La prostatectomie radicale est une chirurgie qui permet d'enlever complètement la tumeur dans la prostate. Ce traitement est offert seulement aux jeunes patients ayant une espérance de vie de plus de 10 ans. Toutefois, cette opération occasionne beaucoup d'effets secondaires plutôt désagréables pour le patient. Environ 2 à 20 % des patients souffrent d'incontinence urinaire persistante et 70 % souffrent d'impuissance et certains peuvent même développer une sténose anastomotique. Malheureusement, la prostatectomie radicale est souvent associée à une ablation incomplète de la tumeur et a un faible taux de survie de 10 ans.

La radiothérapie externe est une alternative à la prostatectomie radicale. Le candidat idéal pour ce type de traitement doit avoir un cancer encore localisé, avoir une longue espérance de vie, ne doit pas avoir de risque à une exposition de radiation et doit préférer ce type de traitement (Pentyala *et al.*, 2000).

L'utilisation d'un faisceau externe de rayons ionisants sur la prostate permet de détruire les cellules cancéreuses sans opération. Il faut que le cancer ne se soit pas encore étendu vers d'autres organes. Il y a plusieurs effets secondaires, car le rayonnement n'affecte pas que la prostate, mais aussi les organes environnants (vessie et rectum) occasionnant des problèmes intestinaux et vésicaux souvent temporaires, mais parfois permanents (Pentyala *et al.*, 2000).

Plus récemment, un nouveau type de radiothérapie est apparu. Elle consiste à insérer des éléments radioactifs isotope directement dans la prostate pour tuer les cellules cancéreuses. Cette technique se nomme aussi la brachythérapie. L'avantage de ce traitement envers la radiation par faisceau est l'habilité de délivrer une grande dose de radiation directement à l'organe sans trop affecter les organes avoisinants. La précision est fortement augmentée grâce aux nouvelles technologies

et la possibilité d'avoir une image en trois dimensions de la prostate. Pour permettre un meilleur résultat, le choix des isotopes radioactifs est très important. Il existe présentement quatre types d'isotope (l'or-198, l'iridium-192, l'iode-125 et le palladium-103). Les isotopes de grandes énergies traitent une plus grande zone de tissus, par contre, ils risquent de causer plus de dommages aux tissus environnants que les moins énergétiques (iode-125 et palladium-103) (Pentyala *et al.*, 2000).

La radiothérapie systémique quant à elle, est l'administration de l'agent radioactif sous forme de liquide, comprimé ou par injection intraveineuse. Une hospitalisation durant le traitement est nécessaire.

L'hormonothérapie peut aussi être utilisée pour les cancers non avancés. Par contre, cette thérapie est très controversée, à cause de la progression des cancers de la dépendance vers l'indépendance aux androgènes pendant la période de traitements.

1.1.4 Traitements du cancer de la prostate avancé

Le traitement principal pour un cancer de la prostate avancé est l'hormonothérapie. L'objectif de l'hormonothérapie est d'empêcher les androgènes d'agir sur la prostate. Il existe plusieurs manières pour gérer les hormones. Il y a l'ablation des testicules (orchidectomie), ou l'utilisation d'estrogènes, d'analogues à l'hormone gonadolibérine (LHRH) et d'antiandrogènes stéroïdiens et non-stéroïdiens (Pentyala *et al.*, 2000).

L'orchidectomie permet d'éliminer dans 70 à 80 % les symptômes des patients atteints d'un cancer avancé. Par contre, l'absence des testicules provoque une perte de libido très rapidement et provoque des problèmes érectiles à cause de la diminution de la quantité des androgènes dans le sang (Pentyala *et al.*, 2000).

Les estrogènes empêchent la glande pituitaire de relâcher la LH (hormone lutéinisante), provoquant ainsi l'inhibition de la synthèse de la testostérone. Ce

traitement peu dispendieux est disponible par voie orale, et est aussi efficace que la castration. Par contre, son utilisation est limitée, car il provoque des problèmes cardiovasculaires et une féminisation (Pentyala *et al.*, 2000).

Les analogues de la LHRH ont des effets similaires à ceux provoqués par les estrogènes et par la castration pour leur efficacité. Ils ont l'avantage de ne pas causer d'effet secondaire cardiovasculaire. Aucun des trois traitements proposés ne permet d'empêcher les androgènes de se rendre au récepteur des androgènes (Pentyala *et al.*, 2000).

La chimiothérapie est utilisée lorsque l'effet des antiandrogènes ne fonctionne plus sur le patient, lorsque le cancer devient hormono-indépendant. Elle est donnée sous forme de comprimé ou par voie intraveineuse. Pour le cancer de la prostate, il y a le Docetaxel (Taxotere) qui, lorsque combiné à des stéroïdes, permet de prolonger la vie des patients. La mitoxantrone combinée avec la prednisone permet de soulager les symptômes du cancer de la prostate. La sipuleucel-T, découverte en 2010, permet une nouvelle immunothérapie, qui utilise les globules blancs du sang du patient pour détruire les cellules cancéreuses de la prostate. Cependant, ce nouveau médicament n'est pas recommandé à tous les patients. Un nouveau médicament du nom de cabazitaxel combiné avec des stéroïdes ou la mitoxantrone peut être utilisé si tous les autres ont échoué (figure 1.3) (<http://www.nccn.com>).

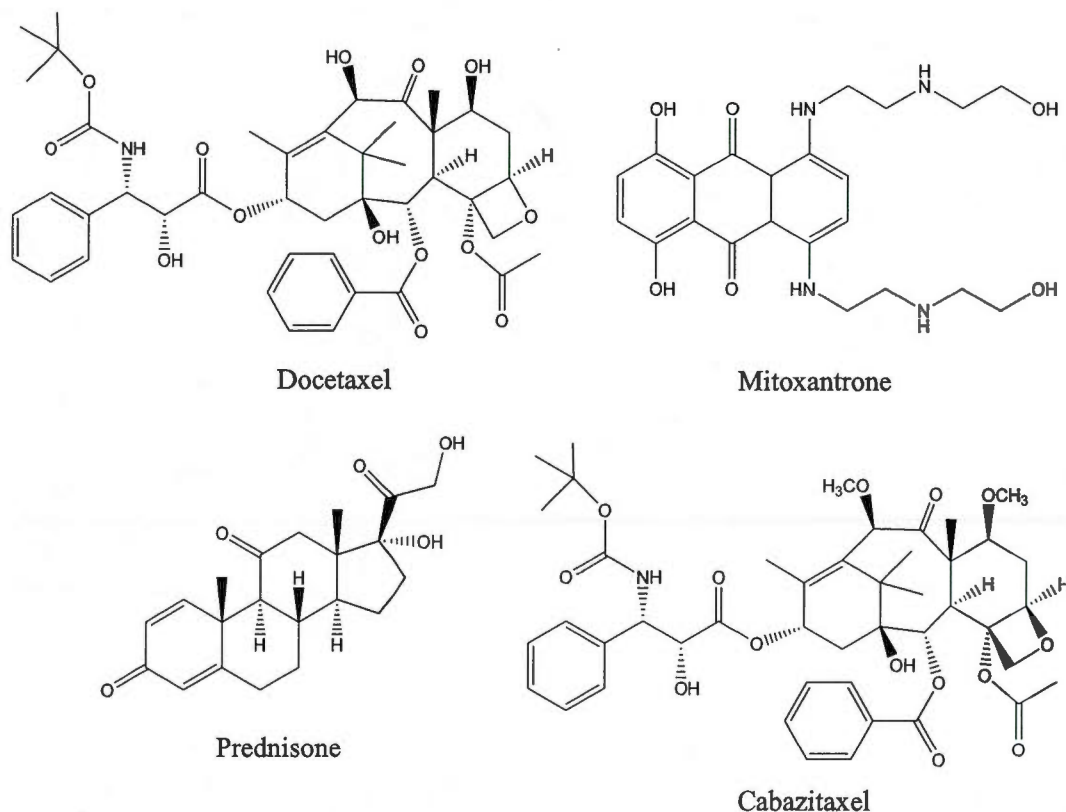


Figure 1.3 Médicaments pour la chimiothérapie contre le cancer de la prostate.

Plusieurs autres médicaments sont en cours de développement et peuvent être testés dans les cliniques spécialisées (National Comprehensive Cancer Network, 2010). Par contre, la chimiothérapie cause beaucoup de problèmes, car les médicaments attaquent autant les cellules cancéreuses que les cellules saines. C'est pourquoi, il y a une grande place pour l'avancement dans ce type de traitement.

Pour chaque traitement décrit dans les paragraphes précédents, il y a place à amélioration. Dans ce projet, les antiandrogènes et les agents alkylants (chimiothérapie) seront les deux voies explorées.

1.2 Androgènes

Lors du diagnostic du cancer, 80 à 90 % des cancers de la prostate sont dépendants des androgènes tels que la testostérone et la dihydrotestostérone (figure 1.4). Les androgènes sont des hormones qui permettent le développement des caractères sexuels masculins et la différenciation sexuelle. De plus, ils permettent le développement de la prostate et aident aux maintiens de ses fonctions. Les deux androgènes principaux qui peuvent affecter le cancer de la prostate sont la testostérone et la dihydrotestostérone.

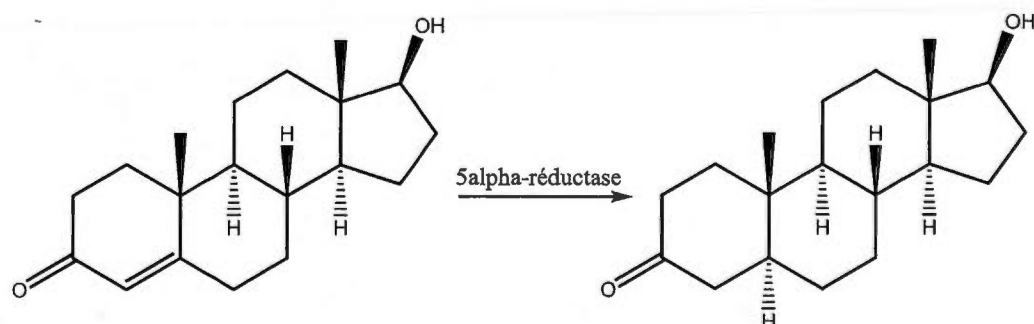


Figure 1.4 Testostérone et dihydrotestostérone (DHT).

La testostérone est synthétisée en réponse à l'hormone lutéinisante (LH) et est produite à 95 % par les testicules et à 5 % par les glandes surrénales (Mohler *et al.*, 2009). La dihydrotestostérone (DHT) est l'androgène qui est actif dans la prostate. Pour que la testostérone soit active auprès des cellules, elle doit être transformée en DHT. La DHT a une affinité d'environ 200 fois supérieure à la testostérone avec les récepteurs des androgènes (Pentyala *et al.*, 2000). La seule différence entre la testostérone et la DHT est la liaison double entre les carbones 4 et 5. La testostérone, circulant en majorité dans le sang, est convertie en DHT dans le cytoplasme par l'enzyme 5α-réductase. La 5α-réductase réduit la liaison double entre le carbone 4 et le carbone 5 (figure 1.4). Chacun de ces androgènes a des rôles différents, la testostérone joue un rôle dans le désir sexuel et la DHT joue un rôle dans la virilisation. Les modes d'action des androgènes sont représentés à la figure 1.5.

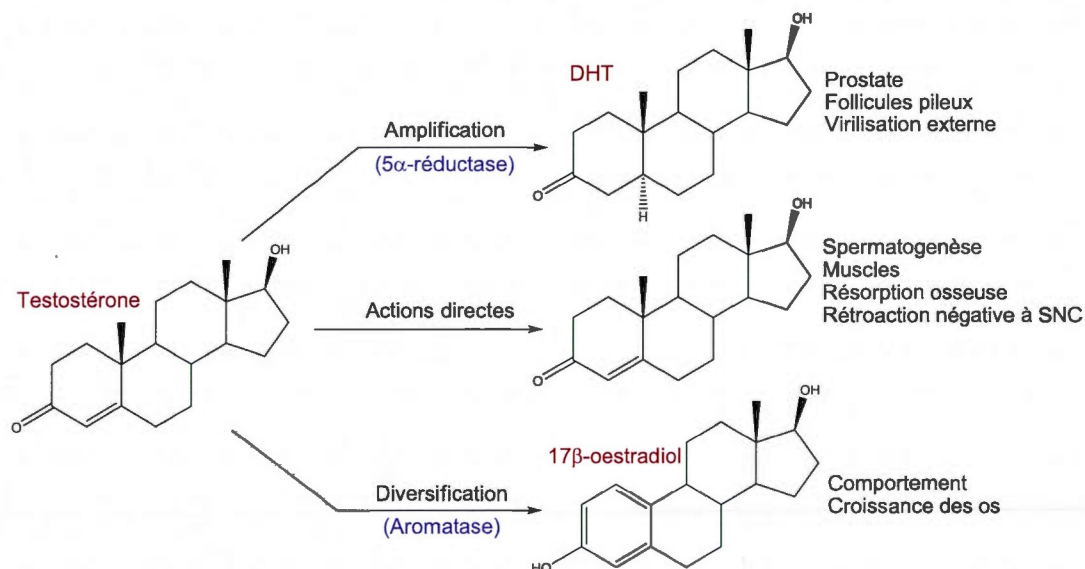


Figure 1.5 La testostérone et ses modes d'action (modifiée de Gao, Kim et Dalton, 2006).

1.2.1 Récepteur des androgènes

Les androgènes exercent leurs effets biologiques lorsqu'ils se lient au récepteur des androgènes (RA) pour permettre l'activation de la transcription. Les récepteurs des androgènes se retrouvent en majorité dans la prostate et les testicules. La testostérone se lie au récepteur des androgènes via les acides aminés montrés à la figure 1.6 à l'aide de ponts hydrogènes.

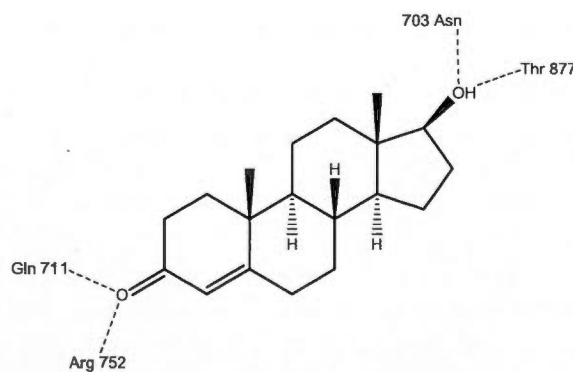


Figure 1.6 Site des liaisons de la testostérone dans le récepteur des androgènes.

Le RA, qui est une protéine de 90 kDa, fait partie de la superfamille des récepteurs nucléaires et stéroïdiens. Il s'agit d'une protéine soluble qui fonctionne comme un facteur de transcription intracellulaire (Gao, Kim et Dalton, 2006). Ils sont composés de trois domaines qui sont composés de huit exons comme il est indiqué dans la figure 1.7. Ils codent une protéine de 919 acides aminés de 100 kDa. Il n'y a seulement qu'un RA identifié chez l'humain et il est localisé sur le chromosome X (Haendler et Cleve, 2011). Il est principalement exprimé dans la prostate, les muscles squelettiques, le foie et le système nerveux central (Gao, Kim et Dalton, 2006).

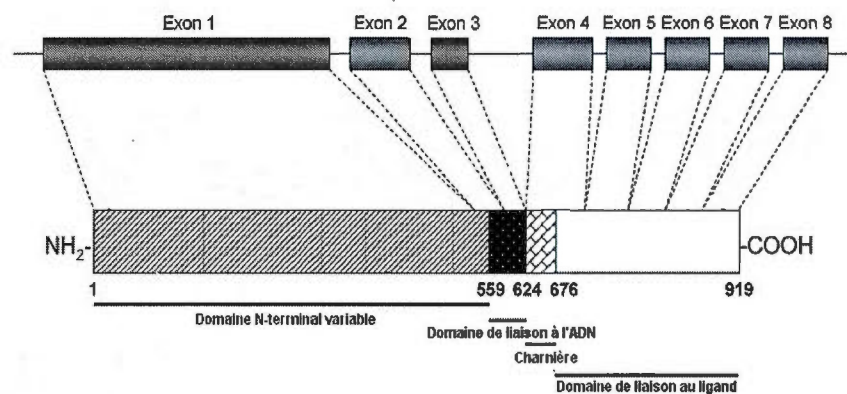


Figure 1.7 Récepteur des androgènes (modifiée de Gao, Kim et Dalton, 2006).

En absence d'androgène, le RA est lié à une protéine de choc thermique pour le stabiliser. Lors de la liaison d'un androgène, cette protéine est expulsée et l'androgène se lie au récepteur. Il y a ensuite dimérisation et phosphorylation du complexe. Il est ensuite transporté vers le noyau de la cellule, où il va se lier à l'ERA (élément de réponse aux androgènes). Enfin, il y a activation de la transcription, entraînant une augmentation du taux d'APS, de la croissance de la cellule et de sa survie. Le mécanisme d'action complet est schématisé sur la figure 1.8 (Grossmann, Huang et Tindall, 2001).

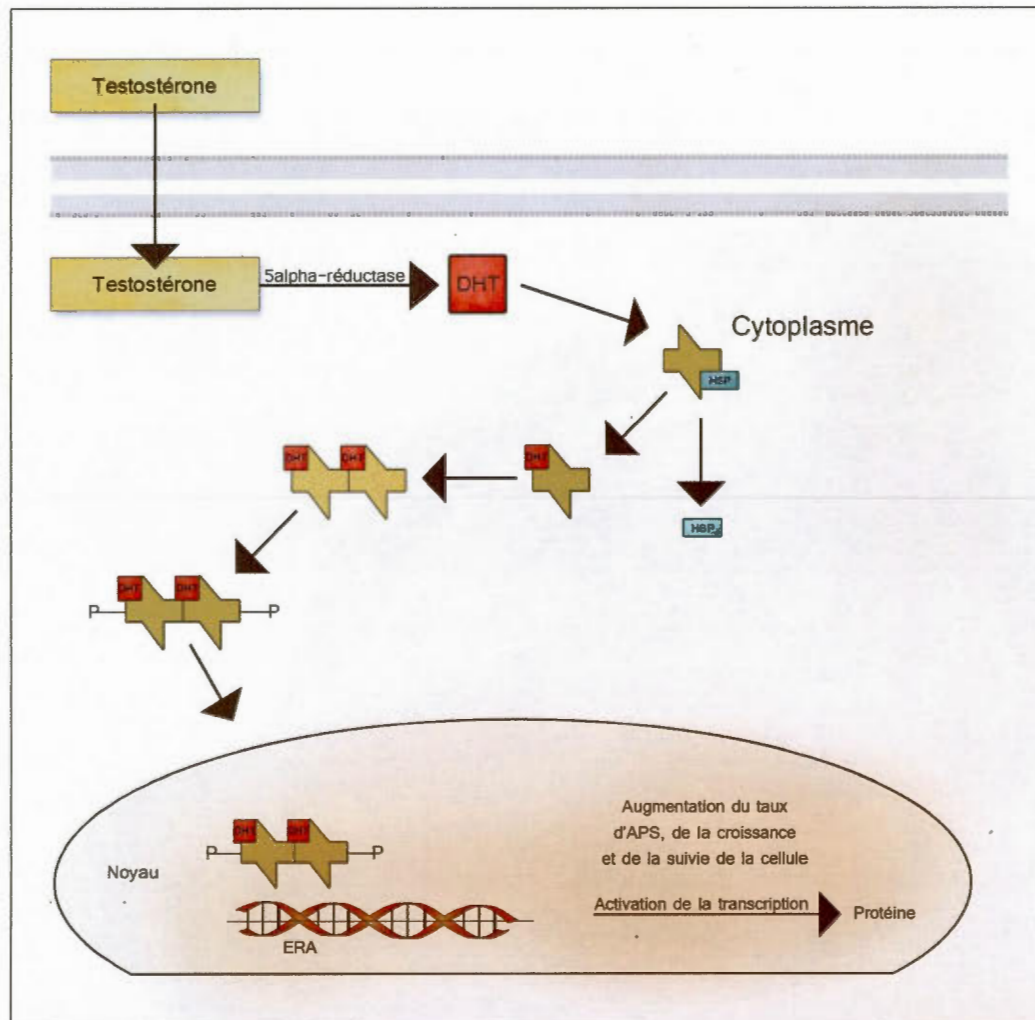


Figure 1.8 Mécanisme d'action schématisé du récepteur des androgènes.

1.2.2 Antiandrogènes

Un des traitements habituels pour les cancers hormono-dépendants de la prostate est le retrait des androgènes soit par la castration, par l'utilisation d'analogues de LHRH ou par l'utilisation des antiandrogènes, stéroïdiens ou non-stéroïdiens. Les antiandrogènes sont des substances qui empêchent les androgènes d'exprimer leur activité aux sites cibles (Neumann et Töpert, 1986). Le plus connu des antiandrogènes stéroïdiens est l'acétate de cyprotérone (figure 1.9) qui possède des

propriétés antigonotropes et progestatives, ce qui cause les mêmes effets secondaires que la castration, en permettant une diminution du niveau de testostérone dans le sang (Wirth, Hakenberg et Froehner, 2007). L'acétate de cyprotérone permet d'avoir le même niveau de testostérone dans le plasma que lorsqu'il y a castration et, en plus, il entre en compétition directe avec la DHT résiduelle dans les cellules cancéreuses de la prostate (Denis et Griffiths, 2000). Par contre, il interagit avec les récepteurs des progestatifs et des glucocorticoïdes rendant les antiandrogènes non-stéroïdiens très intéressants parce qu'ils n'ont pas d'interaction avec ces récepteurs. De plus, il y a un risque d'impuissance et perte de libido.

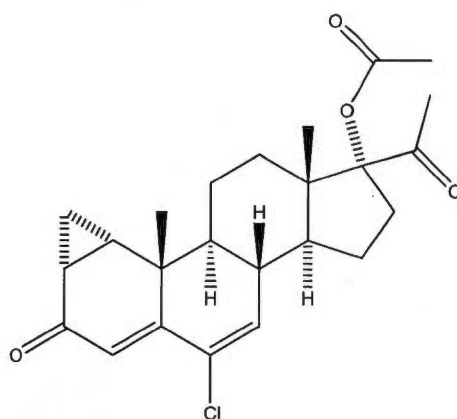


Figure 1.9 Acétate de cyprotérone (Cyprostat).

Le premier antiandrogène non-stéroïdien à avoir été approuvé a été le flutamide (Eulexin) en 1989. Par la suite, le bicalutamide (Casodex) en 1995 et le nilutamide (Nilandron) en 1996 (figure 1.10) ont été introduits en clinique. Le bicalutamide est l'antiandrogène le plus utilisé, car il est le plus puissant et le mieux toléré. Il a ses bons côtés comme une réduction de l'accumulation du gras, une augmentation de la densité osseuse et moins d'effets secondaires indésirables, par contre, il y a possibilité de gynécomastie et de douleur à la poitrine (Wirth, Hakenberg et Froehner, 2007). Il est souvent combiné avec de la leuprolide ou d'autres analogues de la LHRH. Le mode d'action des antiandrogènes non-stéroïdiens est d'inhiber la

fixation des androgènes au récepteur des androgènes de manière compétitive. Toutefois, cela ne permet pas de supprimer le niveau de testostérone dans le sang et il y a même une possibilité d'une augmentation de ce niveau (Wirth, Hakenberg et Froehner, 2007). Les ligands non-stéroïdiens sont plus utilisés en cliniques en raison de leur biodisponibilité et de l'absence de réactivité envers les autres récepteurs (Gao *et al.*, 2005).

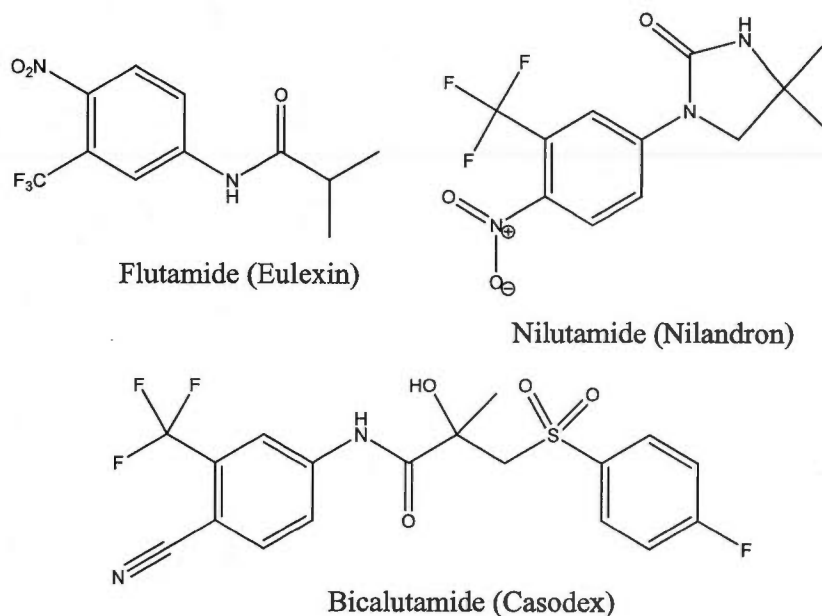


Figure 1.10 Antiandrogènes non-stéroïdiens.

L'effet des antiandrogènes n'est malheureusement que temporaire, car après un certain temps, la majorité des cancers de la prostate deviennent hormono-indépendant au cours du traitement.

1.3 Les moutardes azotées : agents alkylants

Les agents alkylants jouent un rôle très important dans la chimiothérapie contre le cancer. Les agents alkylants sont parmi les médicaments les plus anciens et les plus couramment utilisés pour le traitement des cancers. Les moutardes azotées ont été

les premiers agents alkylants découverts lors de la recherche de gaz toxique durant la Première Guerre mondiale par le Dr Cornelius Packard Roads. La documentation sur ces médicaments commence dans les années 1940 (Ralhan et Kaur, 2007). Le chlorméthine (Mustargen) et le chlorambucil sont les deux moutardes azotées les plus utilisées dans la médecine d'aujourd'hui (figure 1.11).

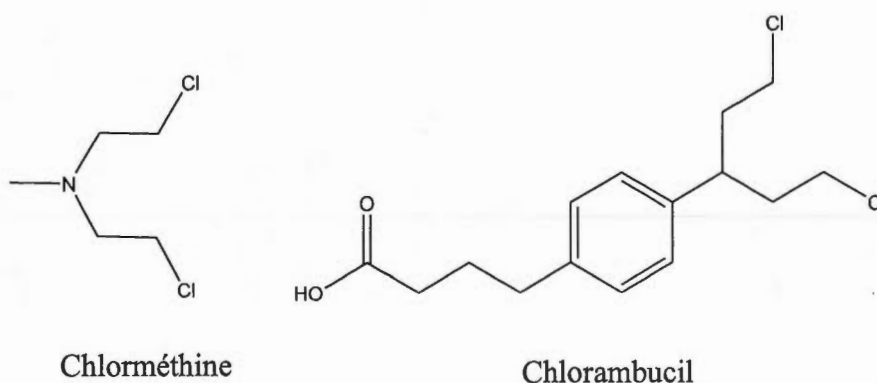


Figure 1.11 Chlorméthine et chlorambucil.

La plupart des agents alkylants ont des mécanismes d'action très similaires, mais diffèrent beaucoup dans leur efficacité clinique. Leur grande cytotoxicité est due à leur capacité de se lier entre les brins d'ADN provoquant ainsi un appariement anormal des bases et inhibant la division cellulaire ce qui résulte à une mort cellulaire. Les médicaments de type alkylant sont plus efficaces dans le traitement des cancers à croissance lente comme les tumeurs solides et la leucémie (Ralhan et Kaur, 2007). Les nucléosides, particulièrement les guanines, sont les sites d'attaque de prédilection des agents alkylants. Les moutardes azotées attaquent principalement la position N7 de la guanine comme illustré dans la figure 1.12 (Gniazdowski et Cera, 1996).

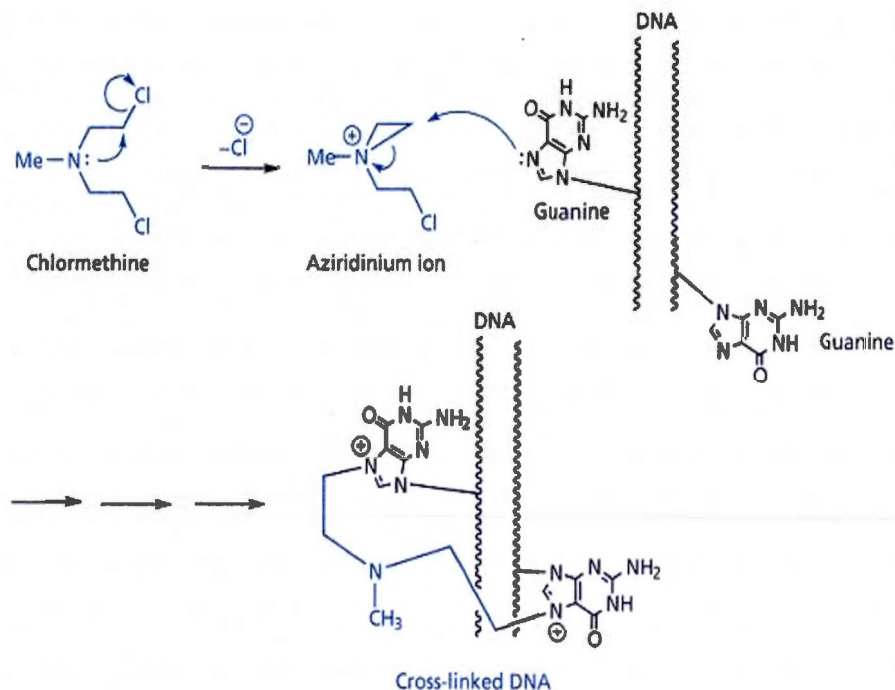


Figure 1.12 Mécanisme d'action schématisé du chlorméthine (agent alkylant) (modifiée de Graham, 2005).

Les agents alkylants sont soit monofonctionnels, réagissant avec un seul brin d'ADN, ou difonctionnels, réagissant avec un atome de chaque brin d'ADN pour réticuler les brins de manière covalente. Les agents alkylants peuvent réagir par trois différents mécanismes qui mènent tous à la mort cellulaire. Comme illustré à la figure 1.13, lors du premier mécanisme (1), les agents alkylants font des dommages en faisant des liens entre les atomes de l'ADN. Dans ce processus, deux bases sont liées ensemble par des agents alkylants bifonctionnels. La liaison entre les bases empêche la séparation des brins pour la synthèse et pour la transcription. Lors du deuxième mécanisme (2), l'alkylation provoque des mutations et un mésappariement entre les nucléotides. Lors du troisième mécanisme (3), l'agent alkylant attache un groupement alkyle aux bases de l'ADN, pendant que l'enzyme tente de remplacer les bases alkylées, résultant à une fragmentation de l'ADN (Ralhan et Kaur, 2007).

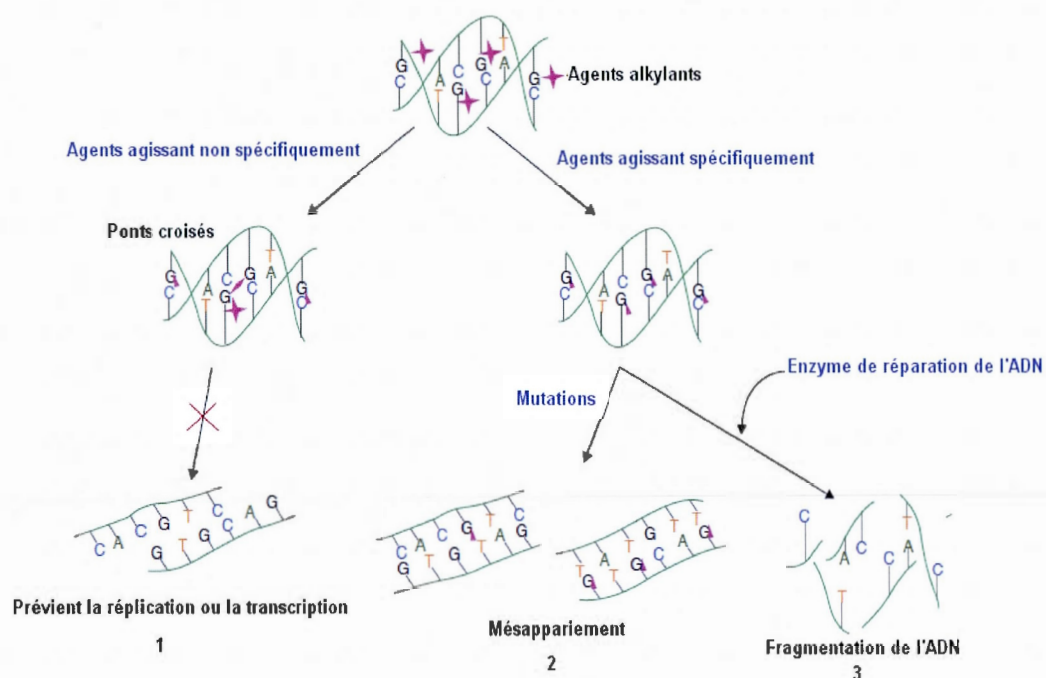


Figure 1.13 Les trois mécanismes d'action des agents alkylants (Ralhan et Kaur, 2007).

Les agents alkylants sont classés en six différents groupes. Il y a les sulfonates alkyles, les éthylèneimines, les nitrosourées, les moutardes azotées, les pipérazines et les triazènes (Ralhan et Kaur, 2007) (figure 1.14).

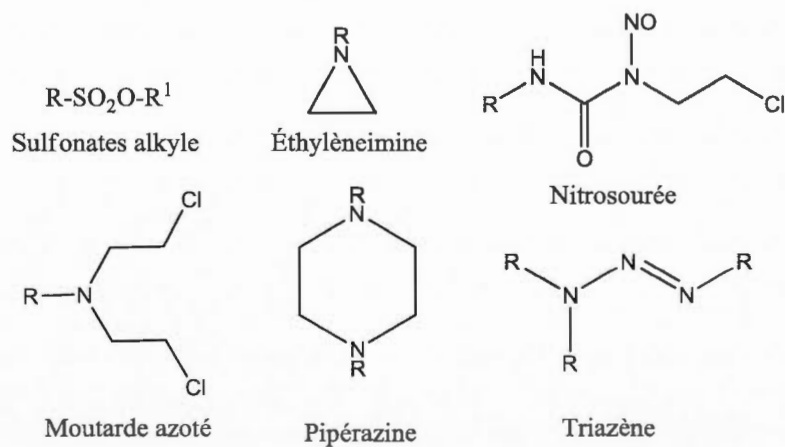


Figure 1.14 Les différentes classes d'agents alkylants.

Malheureusement, ces médicaments ont plusieurs effets secondaires lors de l'utilisation à long terme, incluant l'infertilité, une diminution de la production de sperme chez l'homme, et causant l'arrêt des menstruations chez la femme (Ralhan et Kaur, 2007).

1.4 Objectif : le ciblage thérapeutique

Depuis plusieurs années, à l'Université du Québec à Trois-Rivières, dans les laboratoires des professeurs Gervais Bérubé et Éric Asselin, un nouveau type de molécules contre les cancers est en train de voir le jour. Il s'agit de molécules anticancéreuses hybrides, composées d'un transporteur estrogénique et d'une partie toxique, qui permettent de cibler les cancers féminins hormono-dépendants via le récepteur des estrogènes. Les parties toxiques exploitées sont à base de cisplatine et de moutarde azotée (figure 1.15) (Perron *et al.*, 2005; Descôteaux *et al.*, 2008; Provencher-Mandeville *et al.*, 2011 et Bastien, 2008). Les travaux récents démontrent que le dérivé VP-128 (figure 1.15) est sélectif *in vivo* sur des xénogreffes du cancer du sein (Van Themsche *et al.*, 2009).

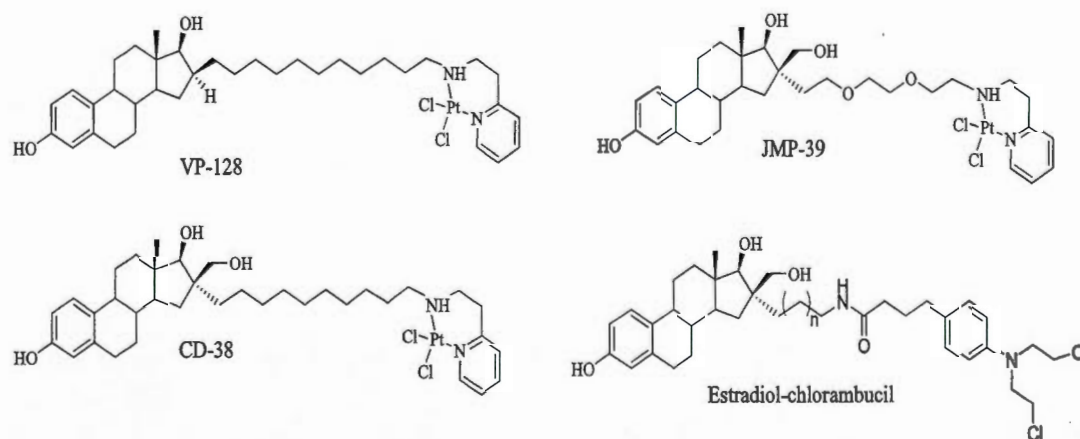


Figure 1.15 Molécules VP-128, CD-38, JPM-39 et estradiol-chlorambucil.

Dans la même optique, des travaux plus récents tentent d'exploiter la même stratégie de ciblage thérapeutique au niveau du cancer de la prostate. Ainsi, un nouveau composé hybride à base de testostérone et d'une moutarde azotée, le chlorambucil, a été fabriqué afin de cibler le récepteur des androgènes (Bastien, 2008). Ces travaux ont permis de fonctionnaliser la position 7 α - de la testostérone pour former la 7 α -allyl-testostérone et d'y ajouter la composante toxique.

Ce projet consiste à trouver un nouveau moyen d'exploiter la 7 α -allyl-testostérone pour fabriquer une série de composés originaux ayant un potentiel cytotoxique et/ou antiandrogénique. Pour ce faire, nous avons décidé de fabriquer l'ester tert-butylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque par métathèse de Grubbs entre l'acétate de 7 α -allyl-4-androstèn-17 β -ol-3-one (7 α -allyl-testostérone) (C) et l'acrylate de tert-butyle. La figure 1.16 illustre l'analyse rétrosynthétique que nous avons imaginée. Cette méthode va nous permettre de fabriquer divers amides (A) en position 7 α du noyau stéroïdien. Brièvement, une rupture de la liaison C-N du composé (A) mène à l'ester α,β -insaturé (B). Ce dernier peut être obtenu par une réaction de métathèse entre la 7 α -allyl-testostérone (C) et l'acrylate de tert-butyle. Une rupture C-C donne la diènone (D) sur laquelle une addition conjuguée de l'allyltriméthylsilane peut être effectuée. Enfin, diverses interconversions de groupes fonctionnels (IGF) de la testostérone (T) peuvent donner accès à la diènone (D).

Les amides envisagés sont à base d'éthanolamine et de diéthanolamine, ce qui peut nous permettre théoriquement d'accéder aux dérivés chlorés correspondants. Ces pharmacophores sont connus pour avoir des propriétés cytotoxiques intéressantes (Fortin *et al.*, 2010; Weagle *et al.*, 2010). De plus, d'autres amides plus simples sont aussi envisagés et seront fabriqués à base de 2-(ω -aminoalkyl)-pyridines. Les dérivés à base d'aminoalkylpyridine sont aussi connus de notre laboratoire et pourraient permettre d'obtenir des composés antiandrogéniques intéressants (Descôteaux, 2008). Les différents substituants R₁ envisagés sont indiqués à la figure 1.16.

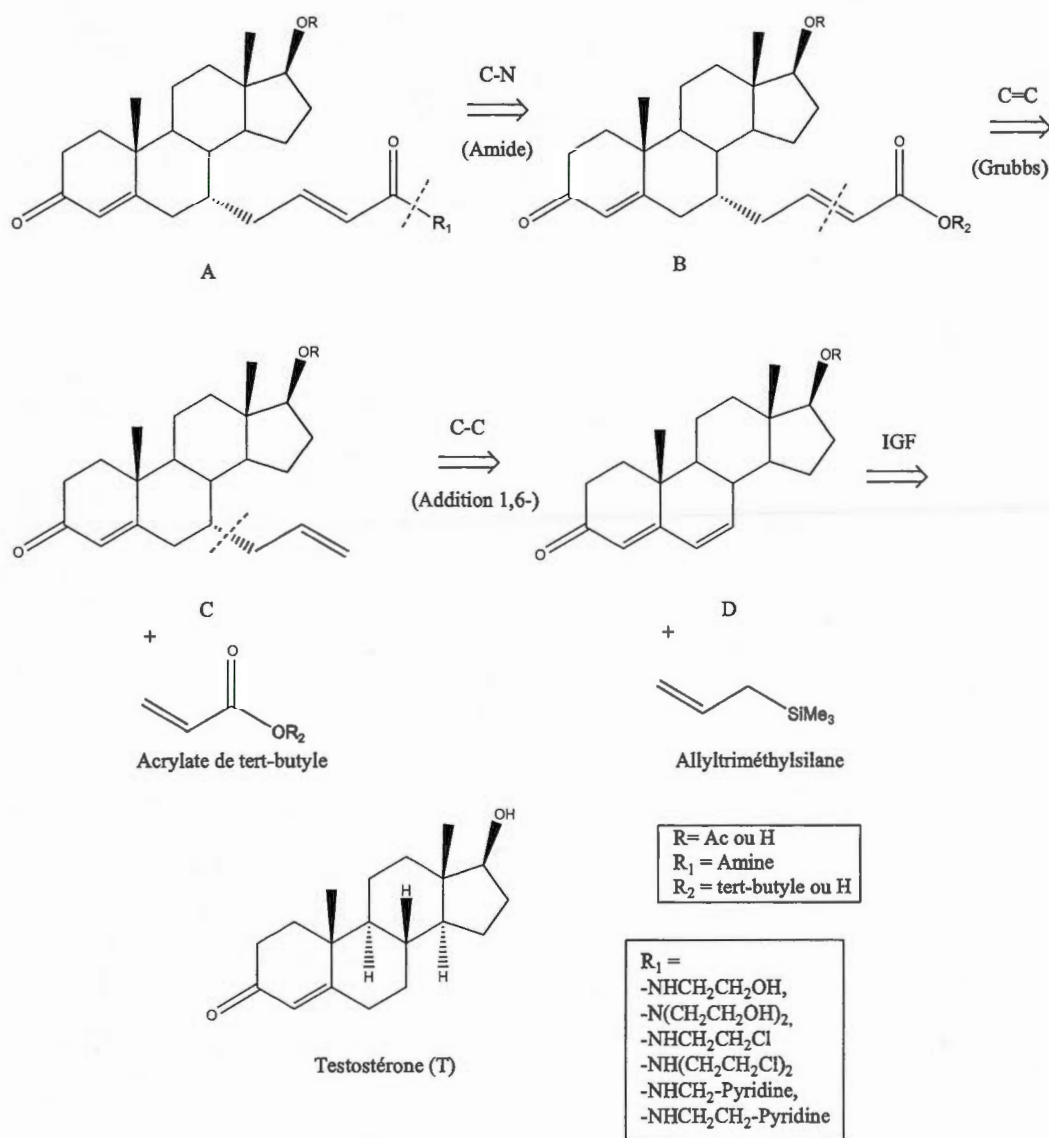


Figure 1.16 Analyse rétrosynthétique envisagée pour la fabrication des amides.

1.4.1 Tests biologiques

Le deuxième objectif du projet est de vérifier l'activité biologique des molécules synthétisées. Pour ce faire, les molécules ont été testées sur des cellules cancéreuses de la prostate hormono-dépendantes (LnCaP, AR⁺) et hormono-indépendantes (PC3, AR⁻).

Les cellules hormono-dépendantes de la lignée cellulaire LnCaP (AR⁺) proviennent d'un carcinome de ganglions lymphatiques de la prostate (<http://www.atcc.org>). Cette lignée de cellules humaines présente une dépendance aux hormones et une croissance continue in vitro (Veldscholte *et al.*, 1992). Les cellules hormono-indépendantes de la lignée cellulaire PC3 (AR⁻) proviennent d'un adénocarcinome prostatique de grade 4 (<http://www.atcc.org>).

Les tests in vitro ont été effectués sur des cellules en culture. Les tests effectués sont des essais colorimétriques de prolifération cellulaire au MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazoline) à 37°C, 5 % de CO₂ et à un temps d'incubation d'environ 3 jours. Le MTT est de couleur jaune avant d'avoir réagi avec les cellules encore vivantes. Après le traitement avec les molécules synthétisées, les cellules vivantes restantes réagissent avec le MTT pour former le formazan qui est de couleur mauve. La couleur mauve est ensuite mesurée par un spectrophotomètre (Mosmann, 1983).

En résumé, le but global du projet est de synthétiser de nouveaux composés amides en position 7 α de la testostérone et de vérifier leur cytotoxicité in vitro sur des cellules hormono-dépendantes et hormono-indépendantes de la prostate. Le chapitre II présentera la synthèse et les résultats de tests biologiques in vitro obtenus.

CHAPITRE II

SYNTHÈSES ET RÉSULTATS

2.1 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (6)

La figure 2.1 représente la synthèse en cinq étapes de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (6). Cette molécule permet la synthèse de plusieurs composés amides en position 7 α de la testostérone. Les transformations chimiques A à E sont décrites un peu plus loin dans le texte.

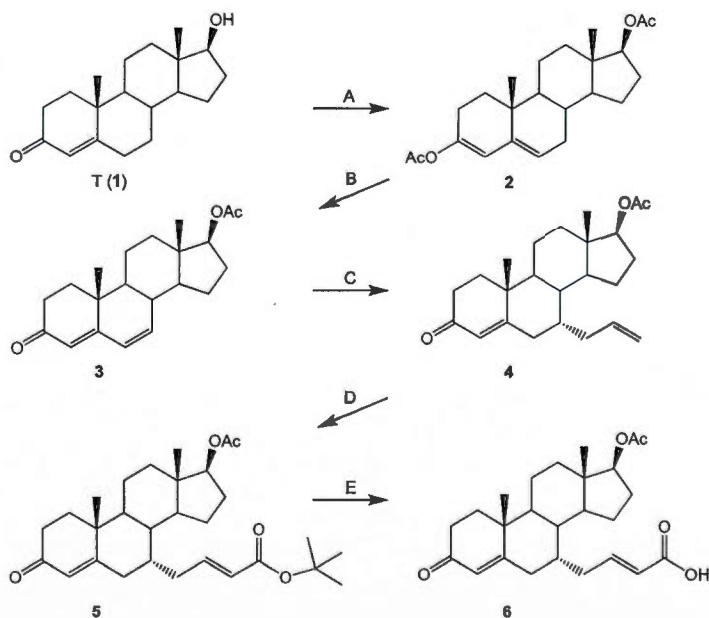


Figure 2.1 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (6) à partir de la testostérone (1).

Les réactions A, B et C permettent la fonctionnalisation de la position 7 α , ces étapes sont des réactions déjà connues de la littérature (Bastien, 2008). Elles seront détaillées pour montrer les modifications effectuées. L'analyse complète des spectres ayant déjà été publiée, seuls les spectres RMN proton ont été pris pour confirmer la structure des produits obtenus.

La réaction A (figure 2.2) permet d'acétyler les deux groupements fonctionnels de la testostérone et de déplacer la double liaison présente dans le cycle A entre les carbones 4 et 5 vers les carbones 3 et 4. De plus, il y a formation d'une double liaison dans le cycle B entre le carbone 5 et le carbone 6. La testostérone fut transformée en diacétate de 3,5-androstadièn-3,17 β -diol (**2**) en solubilisant la testostérone (T) dans l'anhydride acétique et en ajoutant la pyridine et le chlorure d'acétyle. Le rendement brut de cette réaction est de 99 %.

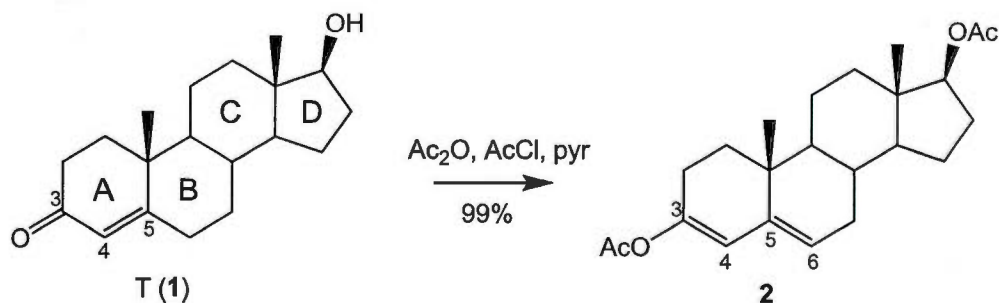


Figure 2.2 Synthèse du diacétate de 3,5-androstadièn-3,17 β -diol (**2**).

La réaction B (figure 2.3) se fait en deux étapes. La première étape consiste à solubiliser le diacétate **2** dans du diméthylformamide (DMF) et de le faire réagir avec du N-bromosuccinimide (NBS). Il y a formation du bromure allylique intermédiaire en position 7 du stéroïde. La deuxième étape est l'ajout du carbonate de lithium (Li_2CO_3) et du bromure de lithium (LiBr). Ces deux étapes combinées permettent de reformer l'énone et de former par élimination la liaison double dans le cycle B entre les carbones 6 et 7. Cette réaction a permis de former le 4,6-androstadièn-17 β -ol-3-one (**3**) avec un rendement de 86 %.

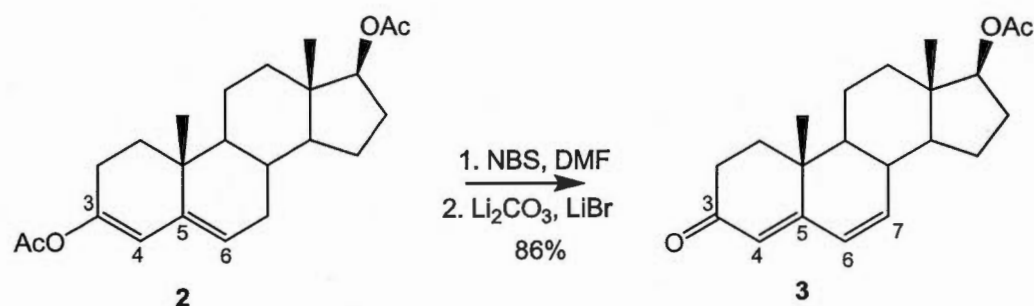


Figure 2.3 Synthèse du 4,6-androstadien-17β-ol-3-one (**3**).

La réaction C (figure 2.4) consiste à ajouter une chaîne allyle en position 7α. Pour ce faire, la diènone **3** est solubilisé dans du dichlorométhane sec (CH₂Cl₂) à basse température, suivi par l'ajout de la pyridine et du tétrachlorure de titane (TiCl₄) et de l'allyltriméthylsilane préalablement dilué dans du CH₂Cl₂ sec. Cette réaction permet d'obtenir l'acétate de 7α-allyl-4-androstèn-17β-ol-3-one (**4**) avec un rendement de 57 %.

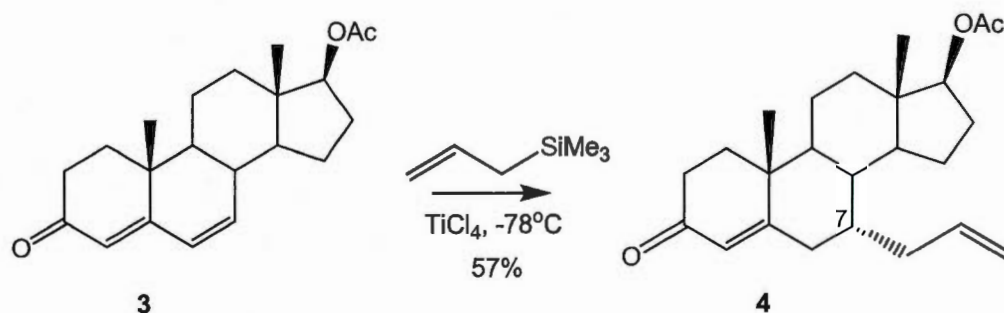


Figure 2.4 Synthèse du 7α-allyl-4-androstèn-17β-ol-3-one (**4**).

La réaction D (figure 2.5) consiste à combiner la chaîne allyle du 7α-allyl-4-androstèn-17β-ol-3-one (**4**) avec l'acrylate de tert-butyle à l'aide du catalyseur de Grubbs 2^e génération. Le composé **4** est dissous dans du dichlorométhane sec puis est ajouté le catalyseur de Grubbs 2^e génération préalablement dissous dans du dichlorométhane sec suivi de l'acrylate de tert-butyle. Cette réaction permet d'obtenir l'ester tert-butylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (**5**) avec un rendement de 85 %.

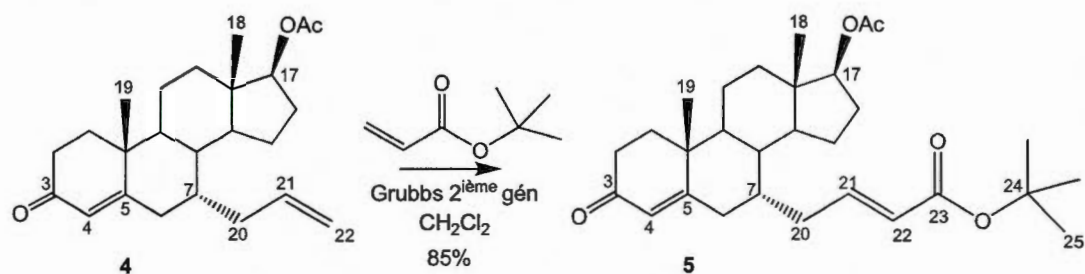


Figure 2.5 Synthèse de l'ester tert-butylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (**5**).

La formation du produit **5** a été confirmée par les spectres RMN-¹H et RMN-¹³C. Dans le spectre RMN-¹H du produit **5**, il y a déplacement du proton du 21-CH vers les 6,68 ppm au lieu de 5,58 ppm et le déplacement des protons du 22-CH₂ de 4,98 ppm vers 5,69 ppm, ce qui permet de confirmer la formation de l'ester α,β-insaturé. La présence d'un grand singulet à 1,45 ppm représentant neuf hydrogènes des trois groupements CH₃ du groupement tert-butyle permet de confirmer que le groupement ajouté est l'acrylate de tert-butyle. Dans le spectre RMN-¹³C, le nouveau pic à 168,4 ppm représente le carbone 23 du carbonyle.

La réaction E (figure 2.6) permet de déprotéger l'acide en enlevant le groupement tert-butyle de l'ester tert-butylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (**5**) à l'aide d'acide trifluoroacétique pour former l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (**6**) avec un rendement de 86 %.

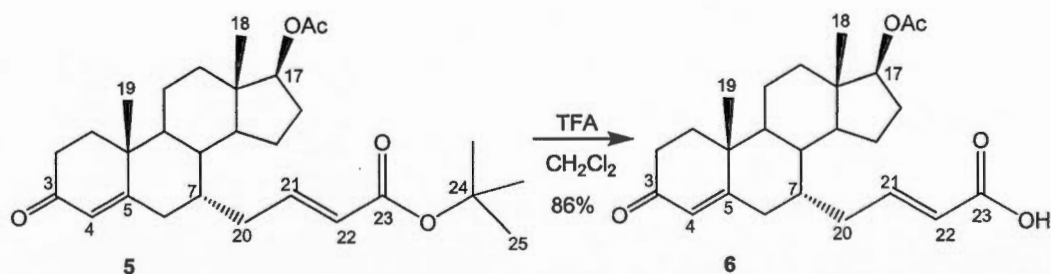


Figure 2.6 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (**6**).

La formation du produit **6** a été confirmée par les spectres IR et RMN- ^1H . La présence d'un pic large entre 3150-2800 cm^{-1} dans le spectre IR est caractéristique d'une fonction acide (COOH). L'absence du singulet à 1,45 ppm du spectre RMN- ^1H permet de confirmer la disparition des trois groupements CH_3 présents dans l'ester de départ.

2.2 Formation des amides

La méthode générale de synthèse des amides repose sur l'utilisation du dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et du 1-hydroxybenzotriazole (HOBT). Dans la figure 2.7, il sera question du mécanisme de cette réaction avec un acide carboxylique.

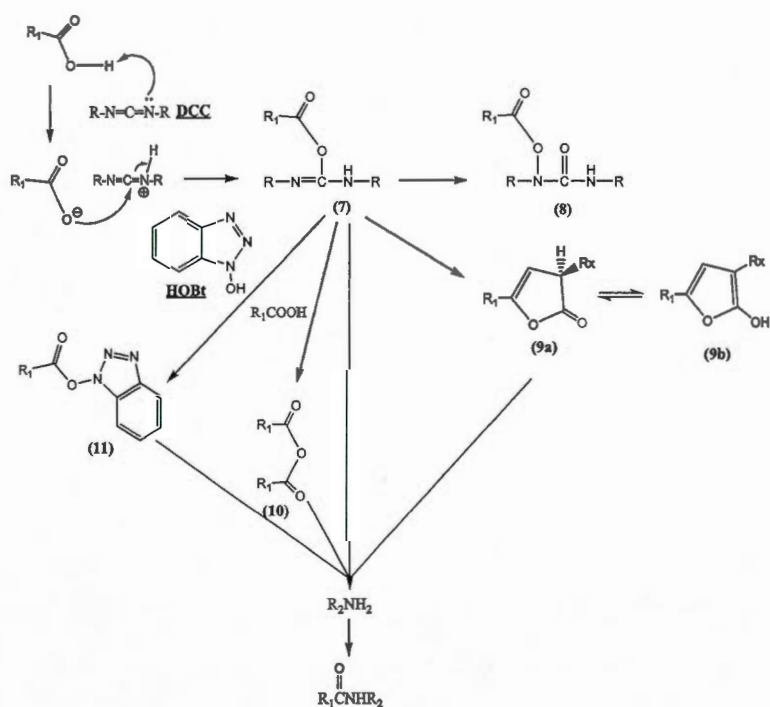


Figure 2.7 Mécanisme de la réaction d'un acide carboxylique avec du DCC et HOBT (modifiée de Marder et Albericio, 2003).

L'ajout du DCC permet l'activation in-situ de l'acide carboxylique. La réaction commence par le transfert d'un proton entre le DCC et l'acide carboxylique. L'ion carboxylate s'additionne ensuite à la double liaison C=N du DCC pour former un O-acylisourée **7**. L'O-acylisourée peut subir un réarrangement pour donner le N-acylurée **8** qui n'est pas réactif. Il peut aussi subir une cyclisation intramoléculaire pour donner le dérivé 5(4H)-oxazolone **9** qui est moins réactif que **7** et qui peut se tautomériser entre la forme **9a** et **9b** perdant ainsi sa chiralité. Lorsque la réaction se fait dans du DMF, il y a une formation rapide d'un anhydride mixte **10**. L'ajout du HOBt permet de former rapidement l'ester **11** qui empêche la racémisation et la formation de produits secondaires (Marder et Albericio, 2003). C'est le dérivé **11** qui réagit avec une amine pour former une liaison amide.

2.3 Synthèse de composés hybrides entre la testostérone et une moutarde azotée protégés en position 17

La figure 2.8 montre la formation des amides en position 7 α de la testostérone. Les amides convoités peuvent être fabriqués à partir de diverses amines commercialement disponibles. Les transformations chimiques F à K sont décrites un peu plus loin dans le texte.

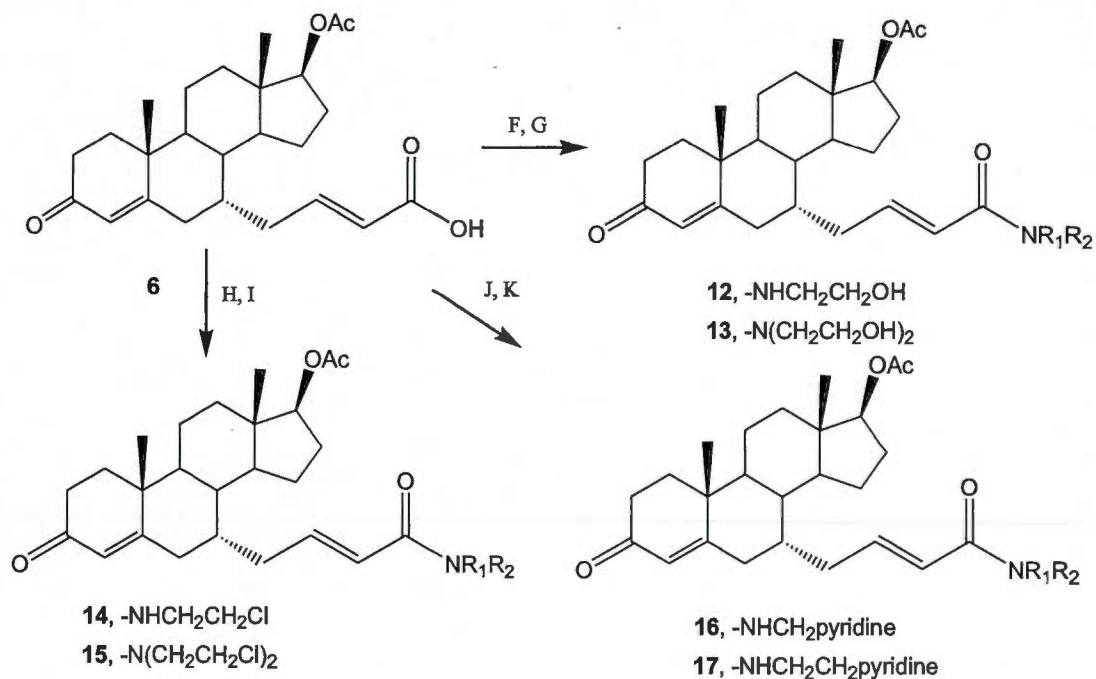


Figure 2.8 Synthèse des amides 12 à 17 protégés en position 17.

La réaction F (figure 2.9) permet de former un amide entre l'éthanolamine et l'acide trans-4-(4-androst-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (**6**) à l'aide du DCC et du HOBT. L'acide **6** est solubilisé dans le DMF, l'éthanolamine est solubilisée dans le DMF dans un autre ballon. Le DCC et le HOBT sont ajoutés à l'acide **6** suivi de l'éthanolamine solubilisée. La solution est agitée jusqu'à disparition complète de l'acide **6** tel que confirmé par CCM. L'acide trans-4-(4-androst-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (**12**) a été formé avec un rendement de 66 %.

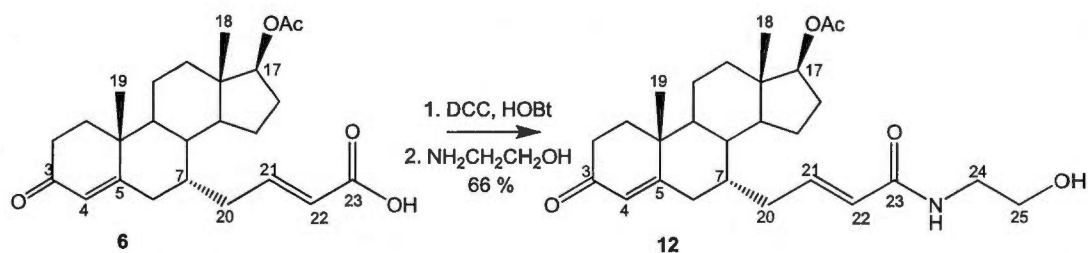


Figure 2.9 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (**12**).

La formation de l'amide **12** a été confirmée par les spectres RMN- ^1H et RMN- ^{13}C . La présence dans le spectre RMN- ^1H à 6,29 ppm d'un triplet caractéristique au groupement NH voisin d'un méthylène et la présence de deux nouveaux pics à 3,76 ppm et 3,49 ppm représentant chacun deux hydrogènes des deux CH_2 du groupement éthanolamide. Il y a aussi la présence de deux nouveaux pics dans le RMN- ^{13}C (62,4 ppm et 46,1 ppm représentant les carbones 24 et 25, respectivement) qui permet de confirmer la formation du produit désiré.

Pour la réaction G (figure 2.10), il s'agit de la même réaction que pour la réaction F. La seule différence est l'amine qui est de la diéthanolamine. L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (**13**) a été formé avec un rendement de 70 %.

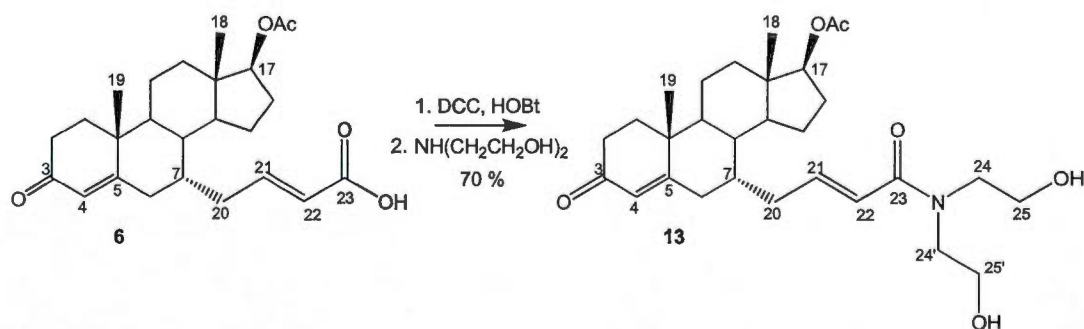


Figure 2.10 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (**13**).

La formation de l'amide **13** a été confirmée par les spectres RMN- ^1H et RMN- ^{13}C . La présence d'un multiplet dans le spectre RMN- ^1H à 3,67 ppm représentant les huit hydrogènes des quatre CH_2 des carbones 24, 24', 25 et 25' et dans le spectre RMN- ^{13}C la présence à 46,1 ppm, 47,3 ppm, 60,5 ppm et 61,9 ppm de nouveaux signaux représentant les carbones 24', 24, 25' et 25, respectivement, permet de confirmer la formation du produit désiré.

La réaction H (figure 2.11) permet de former un amide entre le chlorhydrate de 2-chloroéthylamine et l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) à l'aide du DCC et du HOBT. L'acide **6** est solubilisé dans le DMF, puis le chlorhydrate de 2-chloroéthylamine et la triéthylamine sont solubilisés dans un autre ballon dans le DMF. Le DCC et le HOBT sont ajoutés à l'acide **6** suivi de la solution contenant le chlorhydrate de 2-chloroéthylamine. La solution est agitée jusqu'à disparition complète de l'acide **6**. L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-chloroéthylamide (**14**) a été formé avec un rendement de 67 %. Par contre, le produit obtenu se dégrade très rapidement.

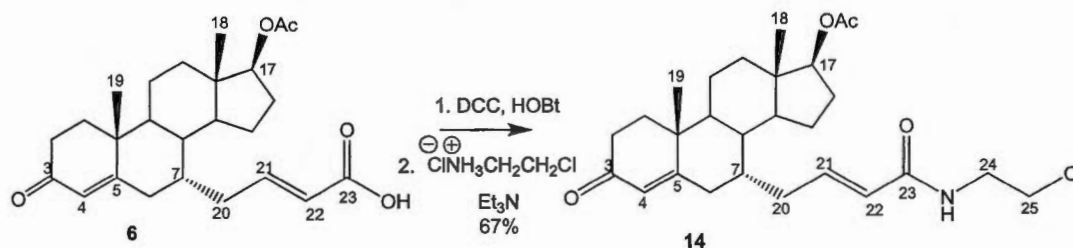


Figure 2.11 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-chloroéthylamide (**14**).

La caractérisation a été possible par l'analyse des spectres IR, RMN- ^1H et RMN- ^{13}C . Par contre, le spectre de masse et les tests biologiques n'ont pu être effectués sur ce composé très instable. La formation de l'amide **14** a été confirmée par les spectres IR, RMN- ^1H et RMN- ^{13}C . En IR, la disparition du pic large entre 3150-2800 cm^{-1} confirme la transformation du groupement COOH en amide. La présence dans le spectre RMN- ^1H à 6,08 ppm d'un singulet large caractéristique au

groupement NH et d'un nouveau pic à 3,66 ppm représentant les quatre hydrogènes des deux CH₂ du groupement 2-chloroéthylamine confirme la structure attendue. Il y a aussi la présence de deux nouveaux pics dans le RMN-¹³C (47,1 et 46,1 ppm représentant les carbones 24 et 25) qui permet de confirmer la formation du produit désiré.

La réaction I (figure 2.12) est identique à celle utilisée pour faire le composé **14**, mais l'amine ajoutée (chlorhydrate de bis(2-chloroéthyl)amine). Cette réaction n'a pas permis de synthétiser l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7-yl)-but-2-énoïque N-N-bis-2-chloroéthylamide (**15**). Deux autres méthodes de synthèse ont alors été tentées pour obtenir l'amide **15**.

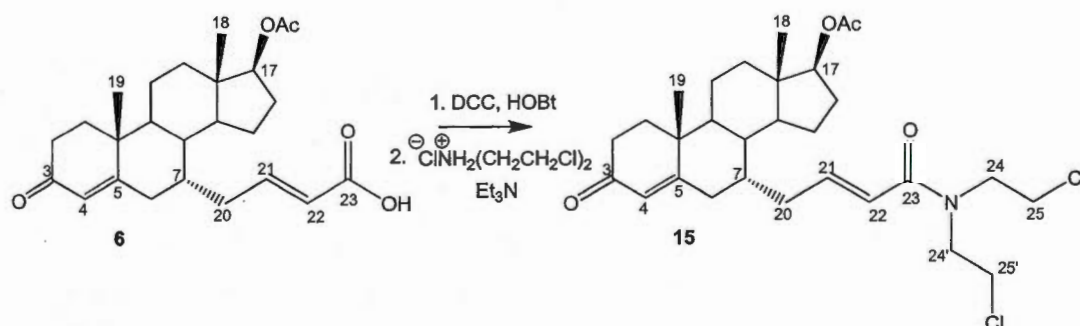


Figure 2.12 Synthèse de l'acide 4-(4-androstèn-17-acétoxy-3-one-7-yl)-but-2-énoïque N-N-bis-2-chloroéthylamide (**15**).

La première méthode (figure 2.13) consistait à solubiliser l'acide **6** dans du chlorure d'oxalyle pendant 15 minutes. Le chlorure d'oxalyle est évaporé sous courant d'azote. Dans un autre ballon, le chlorhydrate de bis(2-chloroéthyl)amine et du triéthylamine sont dissous dans du DMF. Cette solution est ajoutée au chlorure préalablement formé, pour ensuite être agiter jusqu'à disparition du produit de départ.

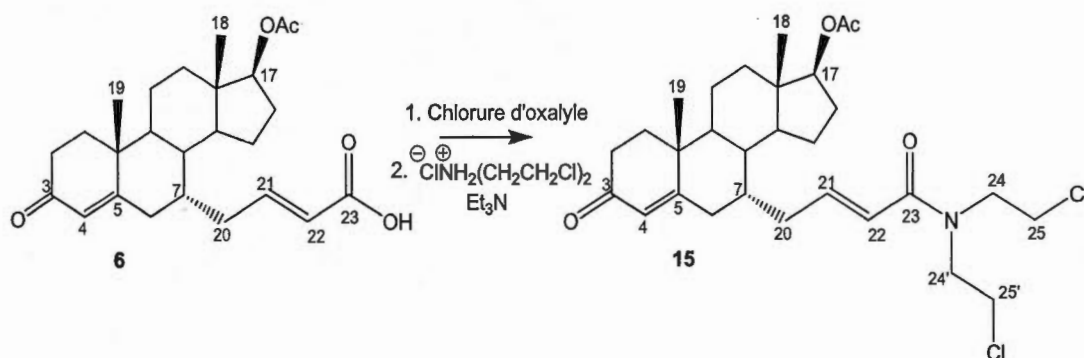


Figure 2.13 Première méthode de synthèse de **15** avec le chlorure d'oxalyle.

La deuxième méthode consistait à dissoudre l'acide **13** synthétisé auparavant dans le chlorure de thionyle et laisser sous agitation pendant cinq heures à température pièce afin d'obtenir l'amide **15**.

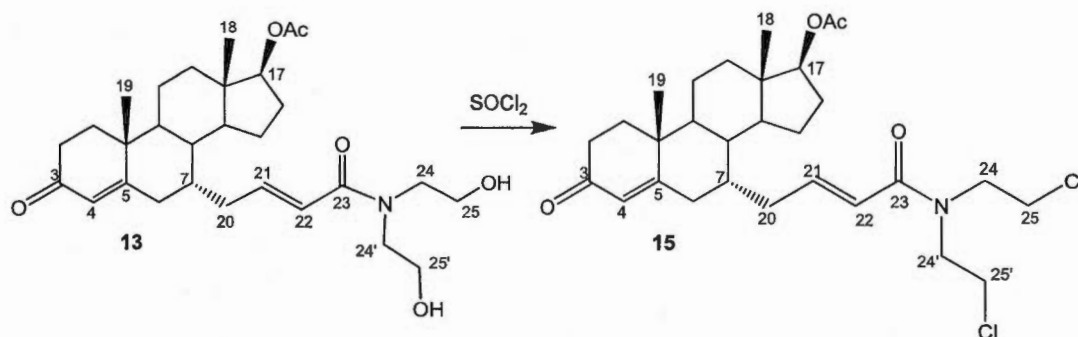


Figure 2.14 Deuxième méthode de synthèse de **15** avec le chlorure de thionyle.

Malheureusement, aucune de ces deux méthodes n'a été fructueuse. Le produit de départ disparaissait et devenait irrécupérable, mais le composé souhaité n'était pas formé ou s'il l'était, il était trop instable et se décomposait instantanément.

La réaction J (figure 2.15) permet de former un amide entre la 2-(aminométhyl)pyridine et l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) à l'aide du DCC et du HOBt. L'acide **6** est solubilisé dans le DMF, la 2-(aminométhyl)pyridine est solubilisée dans le DMF dans un autre ballon. Le DCC et

le HOBt sont ajoutés à l'acide **6** suivi de la 2-(aminométhyl)pyridine préalablement solubilisée. La solution est agitée jusqu'à disparition complète de l'acide **6** tel que confirmé par CCM. L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridylmethylamide (**16**) a été formé avec un rendement de 41 %.

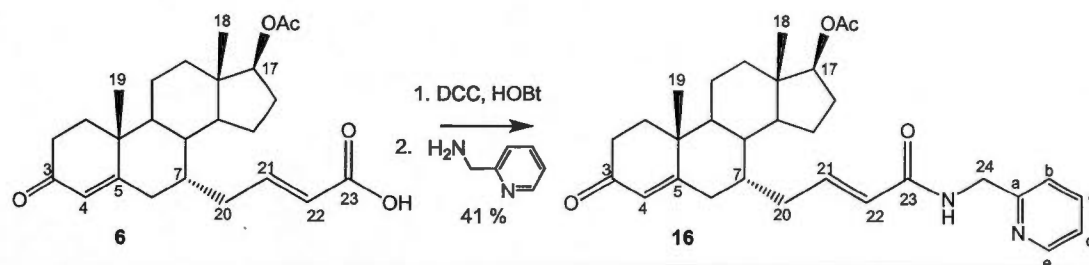


Figure 2.15 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridylmethylamide (**16**).

La formation de l'amide **16** a été confirmée par les spectres IR, RMN- ^1H et RMN- ^{13}C . En IR, la disparition du large pic entre 3150 et 2800 cm^{-1} confirme la transformation du groupement COOH en amide. Dans le spectre RMN- ^1H , la présence d'un multiplet avec une intégration de deux hydrogènes à 7,25 ppm (b-CH et d-CH), d'un triplet avec une intégration d'un hydrogène à 7,66 ppm (c-CH) et d'un doublet avec une intégration d'un hydrogène 8,55 ppm (e-CH) représentant les hydrogènes du cycle pyridine permet de confirmer que la 2-(aminométhyl)pyridine s'est bel et bien liée à l'acide. De plus, il y a un nouveau pic à 4,63 ppm avec une intégration de deux hydrogènes pour le 24-CH $_2$. Dans le spectre RMN- ^{13}C , la présence de nouveaux pics à 122,2 ppm, 125,4 ppm, 136,9 ppm, 143,2 ppm et 156,1 ppm correspondent aux carbones du cycle pyridine.

La réaction K (figure 2.16) permet de former un amide entre la 2-(2-aminoéthyl)pyridine et l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) à l'aide du DCC et du HOBt. L'acide **6** est solubilisé dans le DMF, la 2-(2-aminoéthyl)pyridine est solubilisée dans le DMF dans un autre ballon. Le DCC et le HOBt sont ajoutés à l'acide **6** suivi de la 2-(2-aminoéthyl)pyridine solubilisée. La solution est agitée jusqu'à disparition complète de l'acide **6**. L'acide

trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridyléthylamide (**17**) a été formé avec un rendement de 28 %.

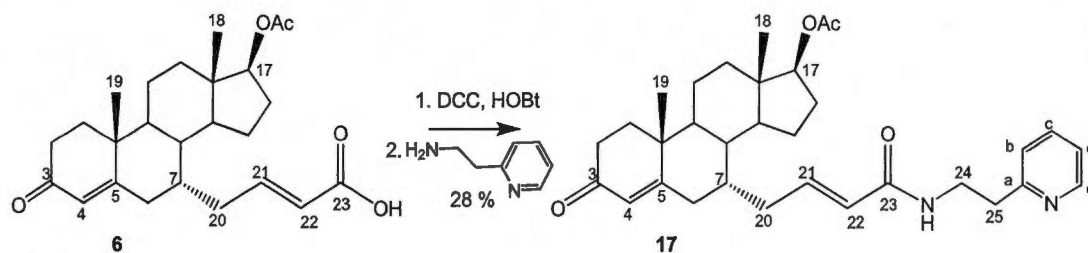


Figure 2.16 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridyléthylamide (**17**).

La formation de l'amide **17** a été confirmée par les spectres IR, RMN- ^1H et RMN- ^{13}C . En IR, la disparition du pic large entre 3150 et 2800 cm^{-1} confirme la transformation du groupement COOH en amide. Dans le spectre RMN- ^1H , la présence d'un multiplet avec une intégration d'un hydrogène à 7,16 ppm (c-CH), d'un doublet avec une intégration d'un hydrogène à 7,17 ppm (b-CH), d'un triplet avec une intégration d'un hydrogène à 7,61 ppm (d-CH) et d'un doublet avec une intégration d'un hydrogène à 8,54 ppm (e-CH) représentant les hydrogènes du cycle pyridine permet de confirmer que la 2-(2-aminoéthyl)pyridine est liée à l'acide de départ. De plus, il y a deux nouveaux pics à 3,01 ppm et 3,74 ppm avec chacun une intégration de deux hydrogènes pour les 24-CH $_2$ et 25-CH $_2$. Dans le spectre RMN- ^{13}C , les nouveaux pics à 121,6 ppm, 125,8 ppm, 136,7 ppm, 143,5 ppm et 159,6 ppm correspondent aux carbones du cycle pyridine.

2.4 Déprotection de la fonction ester en **17** et synthèse d'amides.

La figure 2.17 montre l'hydrolyse des dérivés en position 7 α de la testostérone. Les transformations chimiques L à O sont décrites un peu plus loin dans le texte.

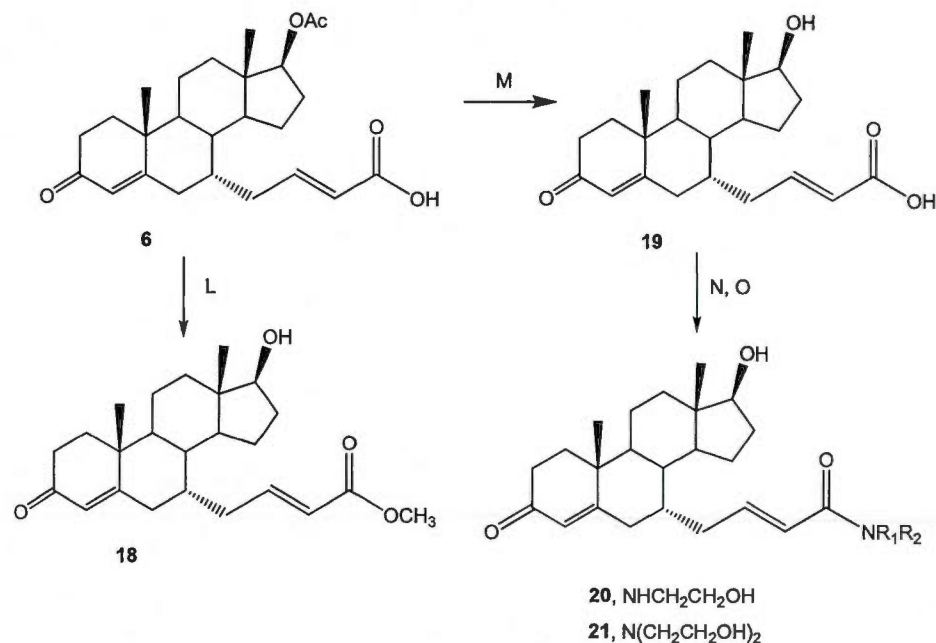


Figure 2.17 Synthèse de l'ester **18**, de l'acide **19** et des amides **20** et **21** déprotégés en position 17.

La réaction L avait pour objectif de déprotéger le OH en position 17. La réaction en milieu acide a permis cette déprotection en position 17, mais a aussi estérifié l'acide pour donner **18** (figure 2.17) au lieu d'obtenir l'acide **19**. Pour ce faire (figure 2.18), l'acide *trans*-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) est solubilisé dans du méthanol et ensuite du HCl 5N est ajouté. La solution est portée à reflux sous agitation jusqu'à disparition complète de l'acide **6** tel que confirmé par CCM. L'ester méthylique **18** a été formé avec un rendement de 98 %.

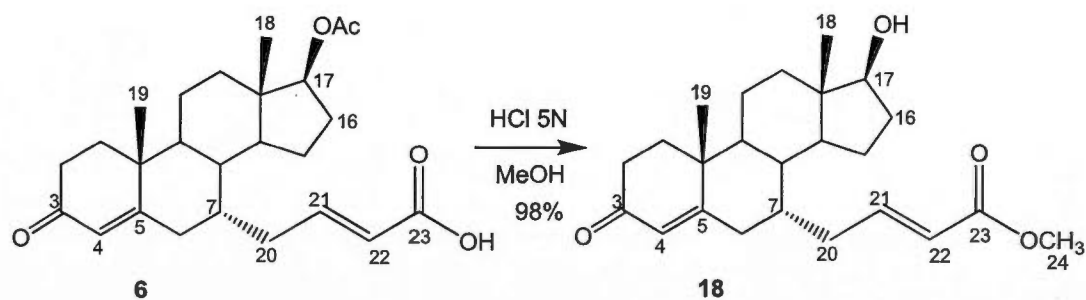


Figure 2.18 Synthèse de l'ester méthylique de l'acide *trans*-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**18**).

La formation de l'ester **18** a été confirmée par les spectres RMN- ^1H et RMN- ^{13}C . Dans le spectre RMN- ^1H , la présence d'un grand singulet à 3,73 ppm représentant les trois hydrogènes du 24- CH_3 confirme l'estérification par le méthanol. Le déplacement du triplet qui représente l'hydrogène du 17-CH de 4,62 ppm pour l'acide **6** vers 3,66 ppm permet de confirmer la déprotection du OH en position 17. La disparition du singulet à 2,05 ppm permet de confirmer qu'il n'y a plus de groupement acétyle sur le 17-OAc mais plutôt un OH. Dans le spectre RMN- ^{13}C , il y a la présence d'un nouveau pic qui correspond au carbone 24 (51,5 ppm). Le pic à 171,3 ppm du carbonyle du 17-OAc est quant à lui disparu.

La réaction M (figure 2.19) permet de déprotéger en conditions basiques le groupement OH en position 17. L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) est solubilisé dans du THF et de l'eau, du NaOH est ensuite ajouté. La solution est portée à reflux jusqu'à disparition du produit de départ. L'acide 4-(4-androstèn-17-hydroxy-3-one-7-yl)-but-2-énoïque (**19**) a été formé avec un rendement de 44 %.

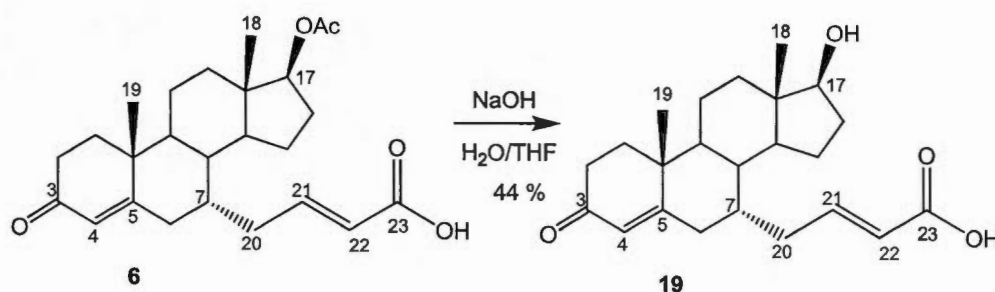


Figure 2.19 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**19**).

La formation de l'acide **19** a été confirmée par les spectres RMN- ^1H et RMN- ^{13}C . Dans le spectre RMN- ^1H , le déplacement du triplet qui représente l'hydrogène du 17-CH de 4,62 ppm pour l'acide protégé vers 3,67 ppm permet de confirmer le clivage de l'acétate en position 17. La disparition du singulet à 2,05 ppm permet de

confirmer qu'il n'y a plus de groupement acétyle sur le 17-OAc mais plutôt un OH. Dans le spectre RMN- ^{13}C , le pic à 171,3 ppm du carbonyle est disparu.

La réaction N (figure 2.20) permet de former un amide entre l'éthanolamine et l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**19**) à l'aide du DCC et du HOBT. L'acide **19** est solubilisé dans le DMF, l'éthanolamine est solubilisée dans le DMF dans un autre ballon. Le DCC et le HOBT sont ajoutés à l'acide **19** suivi de l'éthanolamine solubilisée. La solution est agitée jusqu'à disparition complète de l'acide **19**. L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (**20**) a été formé avec un rendement de 66 %.

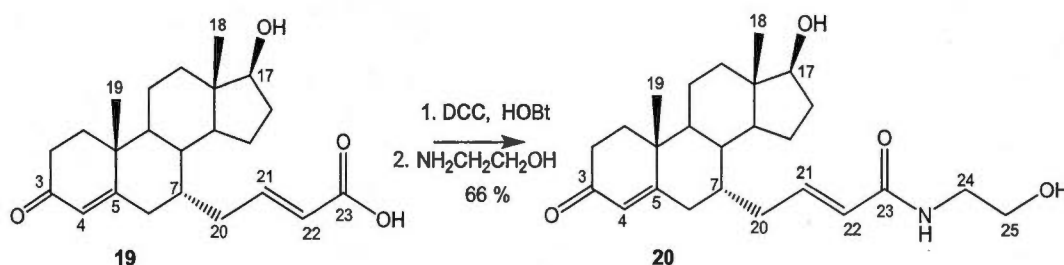


Figure 2.20 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (**20**).

La formation de l'amide **20** a été confirmée par les spectres RMN- ^1H et RMN- ^{13}C . La présence dans le spectre RMN- ^1H à 6,84 ppm d'un triplet caractéristique au groupement NH près d'un méthylène et la présence de deux nouveaux multiplets à 3,68 ppm et 3,46 ppm représentant chacun deux hydrogènes des 24- CH_2 et 25- CH_2 du groupement éthanolamide permet de confirmer la structure. Dans le spectre RMN- ^{13}C , il y a la présence de deux nouveaux pics à 62,1 ppm et 47,4 ppm représentant les carbones 24 et 25, ce qui permet de confirmer la formation du produit désiré.

Pour la réaction O (figure 2.21), il s'agit de la même réaction que pour la réaction N. La seule différence est l'amine qui est de la diéthanolamine. L'acide trans-4-(4-

androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide a été formé avec un rendement de 25 % (**21**).

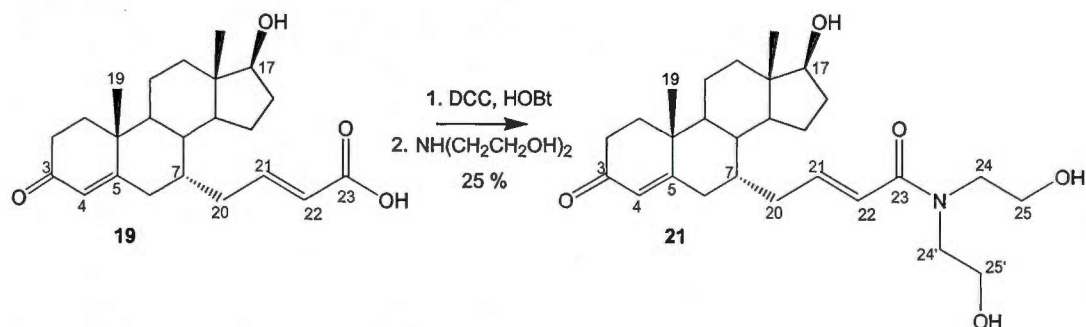


Figure 2.21 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (**21**).

La formation de l'amide **21** a été confirmée par les spectres RMN-¹H et RMN-¹³C. Dans le spectre RMN-¹H, il y a un multiplet à 3,62 ppm qui représente les huit hydrogènes (24-CH₂, 24'-CH₂, 25-CH₂ et 25'-CH₂) du groupement diéthanolamide. Dans le spectre RMN-¹³C, la présence de nouveaux pics à 46,2 ppm, 47,4 ppm, 60,5 ppm et 61,6 ppm correspondants aux carbones 24', 24, 25' et 25, respectivement, permet de confirmer la formation du produit désiré.

CHAPITRE III

TESTS BIOLOGIQUES

3.1 Résultats des tests biologiques in vitro

Les tests biologiques ont été effectués dans le laboratoire du Dr Éric Asselin à l'Université du Québec à Trois-Rivières. Les analyses biologiques au MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazoline) ont été réalisées avec les dix molécules synthétisées (amides finaux et certains précurseurs **5**, **6**, **12**, **13**, **16**, **17**, **18**, **19**, **20** et **21**). Les expériences ont été réalisées en duplicata et les résultats sont la moyenne de 2 à 4 expériences (n) indépendantes. Pour les composés dont l' IC_{50} est plus de 180 μ M, seulement deux essais ont été effectués, pour les autres, trois essais ont été effectués. Les cellules étaient incubées pendant une période de 72 h. Les deux lignées cellulaires du cancer de la prostate utilisées sont LNCaP, hormono-dépendante (AR⁺), et PC3, hormono-indépendante (AR⁻). Le chlorambucil (azote moutarde) et l'acétate de cyprotérone (antiandrogène) sont utilisés comme composés de référence pour permettre de faire une comparaison.

Les valeurs des IC_{50} de toutes les molécules testées se trouvent dans le tableau 3.1. L' IC_{50} est la concentration d'un composé qui permet de réduire de 50 % la croissance des cellules in vitro. Par conséquent, plus la valeur est basse plus le composé est actif.

Dans le tableau 3.1, il est possible de voir que quelques molécules synthétisées possèdent des activités cytotoxiques supérieures au chlorambucil. L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridyléthylamide (**17**) avec son IC₅₀ de 23,7 μ M pour les cellules LNCaP et de 5,8 μ M pour les cellules PC3 a une activité cytotoxique supérieure au chlorambucil (LNCaP : 52,1 μ M et PC3 : 55,7 μ M) sur les deux types de lignées cellulaires du cancer de la prostate. L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) (LNCaP : >180 μ M et PC3 : 11,8 μ M) et l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridylméthylamide (**16**) (LNCaP : 74,2 μ M et PC3 : 16,5 μ M) possèdent une meilleure activité cytotoxique que le chlorambucil et que l'acétate de cyprotérone sur les cellules hormono-indépendantes PC3.

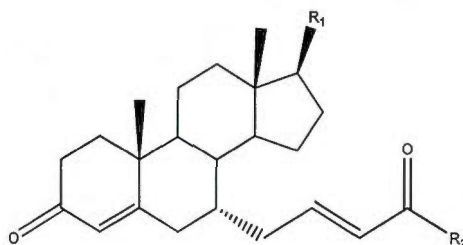


Figure 3.1 Molécule correspondant au tableau 3.1.

Tableau 3.1
Valeurs des IC₅₀ des dérivés de la testostérone sur les lignées cellulaires
de la prostate; LNCaP (AR⁺) et PC3 (AR⁻)

Composé	LNCaP (AR ⁺)	PC3 (AR ⁻)	# test n	Substituant	
	IC ₅₀ *(μM)	IC ₅₀ (μM)		R ₁	R ₂
5	66,5 ± 7,8	64,6 ± 6,3	3	-OAc	-O ^t Bu
6	> 180	11,8 ± 0,6	3	-OAc	-OH
12	> 180	> 180	2	-OAc	-NHCH ₂ CH ₂ OH
13	> 180	> 180	2	-OAc	-N(CH ₂ CH ₂ OH) ₂
16	74,2 ± 12,4	16,5 ± 2,6	3	-OAc	-NHCH ₂ Pyr
17	23,7 ± 6,5	5,8 ± 1,3	4	-OAc	-NHCH ₂ CH ₂ Pyr
18	> 180	46,2 ± 5,9	2	-OH	-OCH ₃
19	NR	40,9 ± 3,0	3	-OH	-OH
20	> 180	45,9 ± 13,6	4	-OH	-NHCH ₂ CH ₂ OH
21	> 180	> 180	2	-OH	-N(CH ₂ CH ₂ OH) ₂
Chlorambucil	52,1 ± 4,6	55,7 ± 4,1	3	---	---
Acétate de Cyprotérone	17,2 ± 0,34	16,1 ± 1,2	4	---	---

* Concentration qui inhibe 50 % de la prolifération cellulaire (IC₅₀, μM), telle que mesurée par l'essai au MTT après 72 h.

Les molécules **16** et **17** avec un noyau pyridine sont les plus actives (IC₅₀ = 5,8 – 74,2 μM) et pourraient être éventuellement testées in vivo. Plusieurs autres composés contenant le noyau pyridine pourraient aussi être facilement synthétisés. De plus, les résultats des composés protégés en position 17 (OAc) semblent beaucoup plus prometteurs in vitro que ceux déprotégés (OH), c'est la raison pour laquelle la déprotection n'a pas été effectuée sur les molécules **16** et **17**. De plus, les composés acétylés en 17 pourraient agir comme prodrogues suite à son hydrolyse in vivo.

Les composés formés à base d'éthanolamine et de diéthanolamine ne possèdent essentiellement aucune activité cytotoxique. Probablement que ces molécules sont trop polaires ce qui ne leur permet pas de passer la membrane cellulaire et de tuer les cellules cancéreuses.

CHAPITRE IV

CONCLUSION

Lors de ces deux années de maîtrise, l'objectif était de trouver un nouveau moyen d'exploiter la 7 α -allyl-testostérone pour fabriquer une série de composés ayant un potentiel cytotoxique et/ou antiandrogénique. Il a été possible de fabriquer 10 nouveaux composés à partir de la 7 α -allyl-testostérone. La majorité des composés sont des amides formés entre l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) ou l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**19**) et des amines correspondantes. L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) a été formé avec un rendement global de 35 % et l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**19**) avec un rendement global de 16 %. Les composés amides protégés ont des rendements globaux entre 10 % et 25 %. Les composés amides déprotégés ont des rendements globaux entre 8 % et 23 %. L'ester méthylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**18**) a été formé avec un rendement de 35 %. La seule optimisation effectuée lors de ce projet a été celle des premières étapes déjà connues, les rendements des nouveaux composés ne sont pas optimisés.

Toutes ces molécules synthétisées ont été testées in vitro sur des cellules cancéreuses de la prostate hormono-dépendantes (AR⁺, androgéno-dépendantes) et hormono-indépendantes (AR⁻, androgéno-indépendantes). Il y a l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**), l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridylméthylamide (**16**) et l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridyléthylamide

(17) qui ont montré des activités cytotoxiques supérieures au chlorambucil et à l'acétate de cyprotérone. Les composés à base d'éthanolamine et de diéthanolamine ne montrent aucune activité cytotoxique probablement parce qu'ils sont trop polaire.

Dans un futur proche, il serait intéressant de pouvoir trouver un moyen de stabiliser les molécules comportant un chlore au lieu d'un groupement hydroxyle, probablement que ces composés seraient plus cytotoxiques que ceux que nous avons fabriqués. L'ajout de plusieurs autres amines à l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (6) pour former d'autres amides pourraient être envisagé. Probablement, qu'il serait préférable d'aller vers les composés qui possèdent un groupement pyridine. De plus, il serait intéressant de réduire la liaison double entre les carbones 21 et 22 et de vérifier les changements qu'apporterait cette modification. La réduction de l'amide en position 23 serait aussi une autre modification intéressante à effectuer. Il serait opportun de trouver un moyen de former des composés à base de dihydrotestotérone, qui a une plus grande affinité avec le récepteur des androgènes que la testostérone. Les composés DHT pourraient possiblement être obtenus par réduction sélective de la liaison double du cycle A des composés amides déjà préparés. Toutefois, cette réduction n'est pas facile en présence simultanée de la fonction amide α,β -insaturé. Cela pourra faire l'objet de recherches subséquentes à ce projet.

CHAPITRE V

MÉTHODOLOGIE

5.1 Générale

Toutes les réactions ont été effectuées dans des solvants achetés chez Fisher ou Aldrich et ils étaient certifiés ACS (« American Chemical Society »). La majorité des solvants sont purifiés par des méthodes standards (Perrin et Armarego, 1988) et quelques-uns sont utilisés tels quels. Les réactions qui nécessitent un milieu anhydre ont été effectuées à l'aide d'un courant d'azote séché sur drierite. La caractérisation des produits a été faite à l'aide de quatre types d'analyse : spectre infrarouge, spectre de masse, spectre de résonance magnétique nucléaire et par le point de fusion.

Les spectres infrarouges (IR) ont été obtenus avec un spectrophotomètre IR-TR Thermo Scientific Nicolet iS10. Le produit ne nécessite pas de préparation préliminaire, dans cet appareil.

Les spectres de masse ont été effectués à l'Université du Québec à Montréal par avec le modèle 6210 d'Agilent technologies. Les échantillons étaient dissous dans du méthanol 50 % aqueux.

Les points de fusion (PF) ont été mesurés sur un appareil Electrothermal et n'ont pas été corrigés.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN- ^1H) et du carbone (RMN- ^{13}C) ont été obtenus à l'aide d'un appareil RMN 200 MHz de Varian. Le solvant utilisé pour tous les composés est le chloroforme deutéré (CDCl_3). Le CDCl_3 est constitué de 0,2 % de CHCl_3 servant de référence interne pour évaluer les déplacements chimiques δ , exprimés en partie par million (ppm).

Le chauffage a été effectué à l'aide d'une mante chauffante contrôlée par un rhéostat. L'agitation du milieu réactionnel est faite à l'aide d'un barreau magnétique et d'une plaque agitatrice. La drierite est insérée dans une seringue installée au bout du réfrigérant afin d'adsorber l'humidité présente. Tous les solvants ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif et ensuite mis sous vide à l'aide d'une pompe pour enlever le maximum de solvant résiduel.

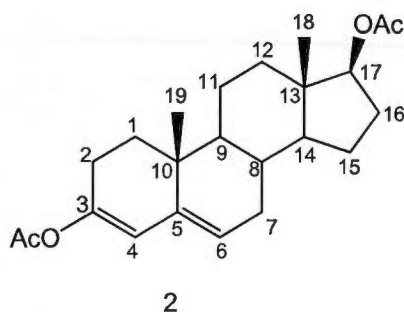
La progression des réactions était suivie par chromatographie sur couche mince (CCM). Le produit brut était dissous et déposé au bas de la plaque de silice. L'élution du produit se faisait avec un mélange approprié de solvants. Selon la polarité des produits, deux types de mélanges étaient utilisés, pour les CCM : hexanes/acétone et chloroforme/méthanol. Les plaques de silice étaient de la compagnie Silicycle (60 Å) et ils avaient une épaisseur de 250 μm . Les produits ont été révélés par ultraviolet. Pour les chromatographies préparatives (épaisseur de 2,0 mm), nous avons utilisé des plaques (20 cm \times 20 cm) de gel de silice préfabriquées (Silicycle).

Le parachèvement était effectué dans une ampoule à décantation. Il s'agissait d'un lavage à l'eau de la phase organique. Celle-ci était séchée avec un agent séchant tel que le sulfate de magnésium pour être ensuite récupéré par filtration et évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu était ensuite séché à l'aide de la pompe à vide.

La majorité des produits nécessitent une purification avant leur utilisation future. Cette purification était effectuée par chromatographie éclair (Still *et al.*, 1978). La

phase stationnaire est constituée de gel de silice de maille de 40-63 μm de la compagnie Silicycle. Les solvants utilisés sont les mêmes que ceux utilisés lors des CCM. Les solvants étaient purifiés par distillation avant leur utilisation. Le produit était initialement adsorbé sur silice à l'aide d'acétone, d'acétate d'éthyle ou de dichlorométhane puis évaporé à sec. La poudre obtenue est déposée lentement au sommet de la colonne avant d'effectuer l'élution.

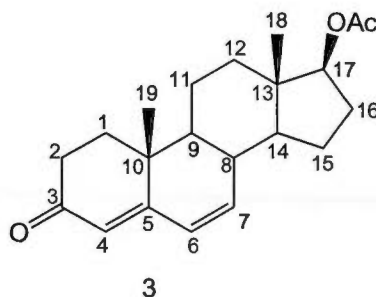
5.2 Synthèse du diacétate de 3,5-androstadièn-3,17 β -diol (2)



L'anhydride acétique (10 mL, 105,99 mmol) et la pyridine (2,1 mL, 25,97 mmol) sont ajoutés à la testostérone (T) (6,02 g, 21,12 mmol) suivie par le chlorure d'acétyle (24 mL, 336,31 mmol). La solution est portée à la température du reflux jusqu'à disparition du produit de départ (environ 6 heures) suivi d'une agitation pendant 30 minutes à température de la pièce. Les solvants du mélange réactionnel sont évaporés à sec à l'aide de l'évaporateur rotatif suivi de la pompe à vide. Le produit est solubilisé dans du dichlorométhane et filtré sur un pain de silice/célite à l'aide de dichlorométhane pour enlever les impuretés. Le solvant est évaporé pour obtenir 7,89 g du diacétate de 3,5-androstadièn-3,17 β -diol (2) pour un rendement brut de 99,3 %. Ce produit blanc n'a pas nécessité de purification par chromatographie éclair, la chromatographie sur couche mince montrait une seule tache. Le produit a été utilisé tel quel pour la réaction suivante. La structure des composés des trois premières étapes a été confirmée seulement par le spectre RMN- ^1H , car il s'agit de produits connus de la littérature (Bastien, 2008).

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 5,69 (1H, d, $J=1,9$ Hz, 4-CH), 5,38 (1H, m, 6-CH), 4,61 (1H, t apparent, $J=7,4$ Hz, 17-CH), 2,13 (3H, s, 3-OAc), 2,04 (3H, s, 17-OAc), 1,01 (3H, s, 19- CH_3), 0,83 (3H, s, 18- CH_3)

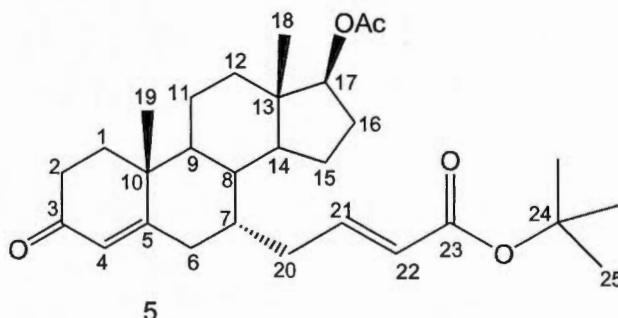
5.3 Synthèse de l'acétate de 4,6-androstadièn-17 β -ol-3-one (3)



Le DMF (55 mL) et l'eau (500 μL) sont ajoutés au diacétate de 3,5-androstadièn-3,17 β -diol (2) (7,77 g, 2,08 mmol) et la solution est ensuite refroidie à 0 °C. Le N-bromosuccinimide (NBS) (4,08 g, 22,92 mmol) est ajouté sur une période de 50 minutes suivie d'une agitation de 40 minutes à 0 °C. L'ajout du Li_2CO_3 (3,42 g, 46,30 mmol) et du LiBr (2,00 g, 23,08 mmol) est effectué à la température de la pièce. Le tout est ensuite chauffé à 95 °C pour une période de 3 heures et est refroidi à température de la pièce. Le mélange réactionnel est versé sur une solution de 150 mL d'eau/glace et de 10 mL d'acide acétique glaciale. Le tout est agité pour une nuit. Le solide en suspension est filtré, lavé à l'eau puis à l'hexanes, dissous dans l'éther et séché. Le produit est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 9,5/0,5) pour obtenir 5,89 g d'acétate de 4,6-androstadièn-17 β -ol-3-one (3) pour un rendement de 86 %.

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 6,08 (2H, s, 6-CH et 7-CH), 5,65 (1H, s, 4-CH), 4,61 (1H, t apparent, $J=7,0$ Hz, 17-CH), 2,03 (3H, s, 17-OAc), 1,09 (3H, s, 19- CH_3), 0,86 (3H, s, 18- CH_3)

5.5 Synthèse de l'ester tert-butylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (5)



Sous atmosphère d'azote, l'acétate de 7α-allyl-4-androstèn-17β-ol-3-one (4) (466,7 mg, 1,26 mmol) est dissous dans du dichlorométhane sec (10 mL). Le catalyseur Grubbs 2^e génération (11,1 mg, 12,77 × 10⁻³ mmol) est préalablement dissous dans 2 mL de dichlorométhane sec et ajouté à la solution de stéroïde. Un excès d'acrylate de tert-butyle (1,9 mL, 12,97 mmol) est ajouté à la solution. La solution est portée à la température du reflux jusqu'à disparition du produit de départ détecté par CCM. Le mélange réactionnel est évaporé à sec. Le produit obtenu est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 9,25/0,75) permettant d'obtenir 503,5 mg d'ester tert-butylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (5) pour un rendement de 85 %.

PF: 169-172°C

IR (ATR, ν_{\max} , cm⁻¹): 1738 (C=O, acétate), 1709 (C=O, ester α,β-insaturé), 1667 (C=O, énone), 1617 (C=C), 1246 (C-O)

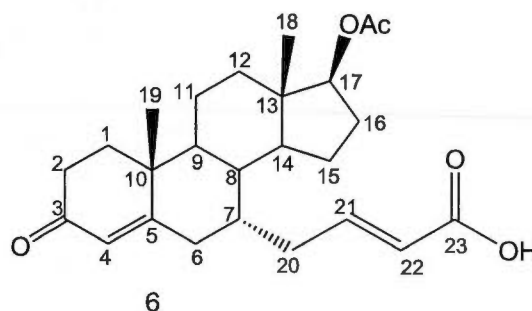
RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃, δ ppm): 6,68 (1H, m, 21-CH), 5,69 (1H, s, 4-CH), 5,69 (1H, d, J=15,3 Hz, 22-CH), 4,58 (1H, t apparent, J=7,5 Hz, 17-CH), 2,01 (3H, s, 17-OAc), 1,45 (9H, s, 25-CH₃), 1,18 (3H, s, 19-CH₃), 0,82 (3H, s, 18-CH₃), 1,00-2,50 (20H, # m, protons restants du stéroïde)

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃, δ ppm): 198,9 (C-3), 171,1 (17-OAc), 168,4 (C-23), 165,7 (C-5), 145,9 (C-21), 126,4 (C-4), 124,9 (C-22), 82,3 (C-17), 80,3 (C-24), 47,0, 46,1,

42,6, 38,6, 38,2, 36,4, 35,9, 35,8, 33,9, 28,5, 28,1 (C-25), 27,3, 22,8, 21,1, 20,7, 17,9, 11,9

ESI + SMHR (M+Na)⁺: Calculée pour C₂₉H₄₂NaO₅ = 493,2924; trouvée = 493,2924

5.6 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (6)



L'acide trifluoroacétique (0,65 mL, 8,75 mmol) est ajouté à la solution d'ester tert-butyle de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (5) (392,6 mg, 0,83 mmol) préalablement dissous dans 3 mL de dichlorométhane. La solution est agitée à la température de la pièce jusqu'à disparition du produit de départ détecté par CCM. La purification se fait en évaporant le mélange réactionnel avec un évaporateur rotatif pour initialement obtenir une huile visqueuse. Par la suite, on ajoute un mélange d'éther et d'hexanes sur l'huile obtenue pour évaporer à nouveau et répéter cette étape jusqu'à l'obtention d'un solide. Le produit est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 8/2) permettant d'obtenir 295,6 mg d'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (6) pour un rendement de 86 %.

PF: 203-206°C

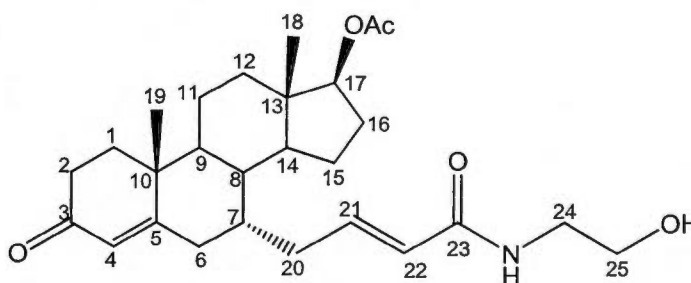
IR (ATR, ν_{\max} , cm⁻¹): 3150-2800 (COOH), 1730 (C=O, acétate), 1713 (C=O acide α,β insaturé), 1645 (C=O, énone), 1245 (C-O)

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 6,91 (1H, m, 21-CH), 5,83 (1H, d, $J=15,7$ Hz, 22-CH), 5,74 (1H, s, 4-CH), 4,62 (1H, t apparent, $J=7,4$ Hz, 17-CH), 2,05 (3H, s, 17-OAc), 1,21 (3H, s, 19- CH_3), 0,85 (3H, s, 18- CH_3) 1,00-2,60 (21H, # m, protons restants du stéroïde)

RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 199,5 (C-3), 171,3 (17-OAc), 170,7 (C-23), 168,9 (C-5), 149,9 (C-21), 126,3 (C-4), 122,7 (C-22), 82,3 (C-17), 47,0, 46,1, 42,6, 38,7, 38,2, 36,4, 36,3, 35,9, 33,8, 29,7, 28,8, 27,3, 22,8, 21,1, 20,7, 17,9, 11,9

ESI + SMHR ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: calculée pour $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{O}_5$ = 415,2479; trouvée = 415,2476

5.7 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (**12**)



12

L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) (150,6 mg, 0,36 mmol) est dissous dans 1 mL de DMF, l'éthanolamine (23 μL , 0,38 mmol) est diluée dans 1 mL de DMF dans un autre ballon. Le dicyclohexylcarbodiimine (DCC) (82,4 mg, 0,40 mmol), le hydroxybenzotriazole (HOBt) (54,7 mg, 0,405 mmol) et l'éthanolamine sont ajoutés à l'acide. La solution est agitée à la température de la pièce jusqu'à la disparition complète du produit de départ détecté par CCM. La solution est diluée dans de l'acétate d'éthyle et est lavé quatre fois avec de l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et évaporée sous vide. Le produit est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 6/4) permettant d'obtenir 110,5 mg d'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (**12**) pour un rendement de 66 %.

PF: 83-100°C

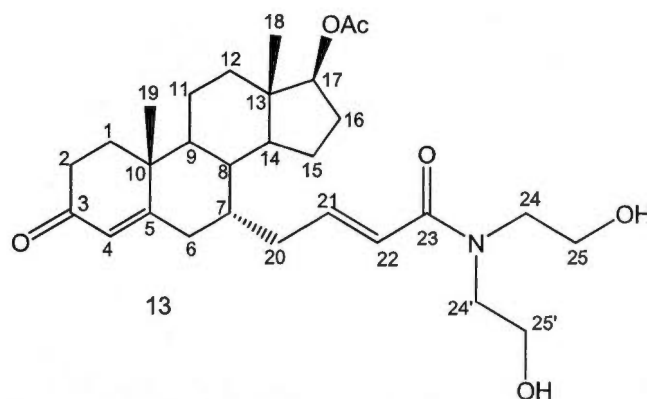
IR (ATR, ν_{\max} , cm^{-1}): 3326 (OH et NH), 1730 (C=O, acétate), 1663 (C=O, amide et énone), 1627 (C=C), 1242 (C-O)

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 6,73 (1H, m, 21-CH), 6,29 (1H, t apparent, $J = 5,5$ Hz, NH) 5,77 (1H, d, $J = 14,9$ Hz, 22-CH), 5,64 (1H, s, 4-CH), 4,61 (1H, t apparent, $J = 7,4$ Hz, 17-CH), 3,76 (2H, m, 24- CH_2), 3,49 (2H, m, 25- CH_2), 3,13 (1H, sl, OH) 2,04 (3H, s, 17-OAc), 1,21 (3H, s, 19- CH_3), 0,85 (3H, s, 18- CH_3) 1,00-2,60 (20H, # m, protons restants du stéroïde)

RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 199,4 (C-3), 171,1 (C-17-OAc), 169,1 (C-23), 166,6 (C-5), 143,5 (C-21), 126,1 (C-22), 125,3 (C-4), 82,3 (C-17), 62,4 (C-25), 47,2, 46,1 (C-24), 42,6, 38,7, 38,2, 36,4, 36,0, 35,6, 34,0, 28,7, 27,3, 22,8, 22,6, 21,1, 20,7, 17,9, 11,9

ESI + SMHR (M+H) $^+$: Calculée pour $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{NO}_5$ = 458,2901; trouvée = 458,2897

5.8 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3 α -one-7-yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (**13**)



L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3 α -one-7-yl)-but-2-énoïque (**6**) (206,7 mg, 0,50 mmol) est dissous dans 1 mL de DMF, la diéthanolamine (86,1 mg, 1,07 mmol) est diluée dans 1 mL de DMF dans un autre ballon. Le DCC (124,7 mg, 0,60 mmol), le HOBt (81,2 mg, 0,60 mmol) et la diéthanolamine sont ajoutés à l'acide. La solution est agitée à la température de la pièce jusqu'à la disparition complète du produit de

départ détecté par CCM. La solution est diluée dans de l'acétate d'éthyle et est lavée quatre fois avec de l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et évaporée. Le produit est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 6/4) permettant d'obtenir 174,1 mg d'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (**13**) pour un rendement de 70 %.

PF: 58-62°C

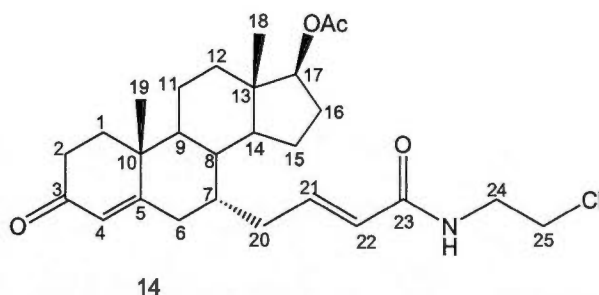
IR (ATR, ν_{\max} , cm^{-1}): 3390 (OH), 1730 (C=O, acétate), 1662 (C=O, amide et énone), 1602 (C=C), 1242 (C-O)

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 6,72 (1H, m, 21-CH), 6,28 (1H, d, $J=15,2$ Hz, 22-CH), 5,67 (1H, s, 4-CH), 4,59 (1H, t apparent, $J=7,5$ Hz, 17-CH), 4,07 (1H, OH), 3,67 (8H, m, 24-CH $_2$, 24'-CH $_2$, 25-CH $_2$ et 25'-CH $_2$), 2,02 (3H, s, 17-OAc), 1,18 (3H, s, 19-CH $_3$), 0,83 (3H, s, 18-CH $_3$) 1,00-2,60 (21H, # m, protons restants du stéroïde)

RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 199,9 (C-3), 171,1 (17-OAc), 169,5 (C-23), 168,3 (C-5), 145,0 (C-21), 126,0 (C-22), 122,8 (C-4), 82,3 (C-17), 61,9 (C-25), 60,5 (C-25'), 51,8, 51,2, 47,3 (C-24), 46,1 (C-24'), 42,6, 38,6, 38,3 36,6, 36,4, 36,1, 35,2, 33,9, 29,6, 27,3, 22,8, 21,1, 20,7, 18,1, 11,9

ESI + SMHR ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: Calculée pour $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{NO}_6$ = 502,3163; trouvée = 502,3160

5.9 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-chloroéthylamide (**14**)



L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) (113,2 mg, 0,27 mmol) est dissous dans 1 mL de DMF, le chlorhydrate de 2-chloroéthylamine

(38,4 mg, 0,33 mmol) est diluée dans 1 mL de DMF dans un autre ballon avec de la triéthylamine (50 μ L, 0,36 mmol). Le DCC (67,6 mg, 0,33 mmol), le HOBt (46,1 mg, 0,34 mmol) et la solution de triéthylamine et de 2-chloroéthylamine hydrochloride sont ajoutés à l'acide **6**. La solution est agitée à la température de la pièce jusqu'à la disparition complète du produit de départ détecté par CCM. La solution est diluée dans de l'acétate d'éthyle et est lavé quatre fois avec de l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et évaporée. Le produit est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 6/4) permettant d'obtenir 86,6 mg d'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-chloroéthylamide (**14**) pour un rendement de 67 %.

PF: 76-81°C

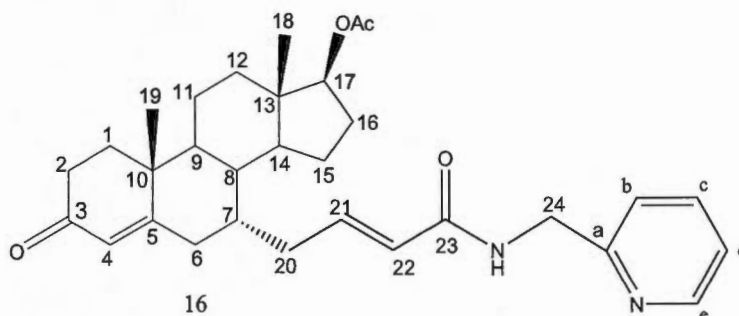
IR (ATR, ν_{\max} , cm^{-1}): 3300-3100 (NH, amide), 1731 (C=O, acétate), 1660 (C=O, amide et énone), 1610 (C=C), 1246 (C-O)

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 6,70 (1H, m, 21-CH), 6,08 (1H, sl, NH), 5,77 (1H, d, $J=15,3$ Hz, 22-CH), 5,69 (1H, s, 4-CH), 4,60 (1H, t apparent, $J=8,6$ Hz, 17-CH), 3,66 (4H, m, 24- CH_2 et 25- CH_2), 2,03 (3H, s, 17-OAc), 1,20 (3H, s, 19- CH_3), 0,84 (3H, s, 18- CH_3), 1,00-2,60 (20H, # m, protons restants du stéroïde)

RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 199,2 (C-3), 171,1 (C-17-OAc), 168,7 (C-23), 165,5 (C-5), 143,9 (C-21), 126,2 (C-22), 125,1 (C-4), 82,3 (C-17), 47,1 (C-25), 46,1 (C-24), 43,9, 42,6, 41,2, 38,7, 38,2, 36,4, 36,0, 35,6, 34,0, 30,9, 28,6, 27,3, 22,8, 21,1, 20,7, 17,9, 11,9

ESI + SMHR: Non disponible, le produit se décompose rapidement.

5.10 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridylméthylamide (**16**)



L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) (107,5 mg, 0,26 mmol) est dissous dans 1 mL de DMF, la 2-(aminométhyl)pyridine (57,0 mg, 0,53 mmol) est diluée dans 1 mL de DMF dans un autre ballon. Le DCC (56,2 mg, 0,27 mmol), le HOBt (37,9 mg, 0,28 mmol) et la 2-(aminométhyl)pyridine sont ajoutés à l'acide. La solution est agitée à la température de la pièce jusqu'à la disparition complète du produit de départ détecté par CCM. La solution est diluée dans 100 mL d'eau. La phase aqueuse est ensuite lavée trois fois avec de l'éther diéthylique mélangé avec cinq gouttes de dichlorométhane. La phase organique est ensuite lavée avec quatre portions de 50 mL d'eau. Par la suite, la phase organique est séchée, filtrée et évaporée. Le produit est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 7,5/2,5) permettant d'obtenir 63,9 mg d'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridylméthylamide (**16**) pour un rendement de 41 %.

PF: 190-193 °C

IR (ATR, ν_{max} , cm^{-1}): 3334 (NH), 1736 (C=O, acétate), 1659 (C=O, amide et énone), 1615 (C=C), 1230 (C-O)

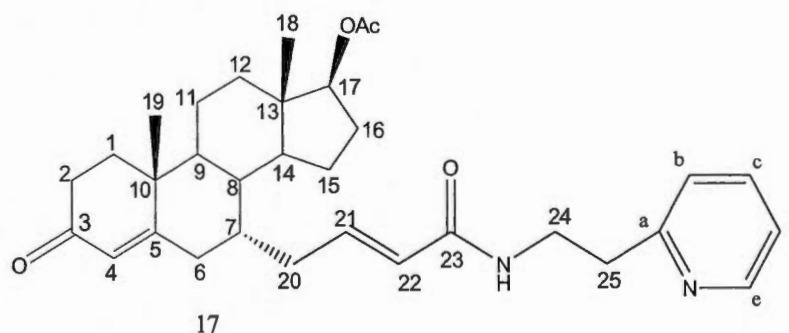
RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 8,55 (1H, d, $J=4,7$ Hz, e-CH), 7,66 (1H, t, $J=7,6$, c-CH), 7,25 (2H, m, b-CH et d-CH), 6,84 (2H, m, 21-CH et NH), 5,88 (1H, d, $J=15,2$, 22-CH), 5,71 (1H, s, 4-CH), 4,63 (2H, d, $J=4,6$ Hz, 24-CH $_2$), 4,62 (1H, m, 17-CH),

2,05 (3H, s, 17-OAc), 1,20 (3H, s, 19-CH₃), 0,85 (3H, s, 18-CH₃), 1,00-2,60 (20H, # m, protons restants du stéroïde)

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃, δ ppm): 199,1 (C-3), 171,1 (17-OAc), 168,7 (C-5), 165,5 (C-23), 156,1 (C-a), 149,0 (C-21), 143,2 (C-e), 136,9 (C-c), 126,3 (C-22), 125,4 (C-b), 122,4 (C-4), 122,2 (C-d), 82,3 (C-17), 47,1, 46,1, 44,4 (C-24), 42,6, 38,6, 38,2 36,4, 36,3, 36,0, 35,7, 34,0, 29,7, 27,3, 22,8, 21,1, 20,7, 17,9, 11,9

ESI + SMHR (M+H)⁺: Calculée pour C₃₁H₄₁N₂O₄ = 505,2988; trouvée = 505,3051

5.11 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque N-2-pyridyléthylamide (**17**)



L'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque (**6**) (103,1 mg, 0,25 mmol) est dissous dans 1 mL de DMF, la 2-(2-aminoéthyl)pyridine (63,4 mg, 0,52 mmol) est diluée dans 1 mL de DMF dans un autre ballon. Le DCC (61,1 mg, 0,30 mmol), le HOBt (40,5 mg, 0,30 mmol) et la 2-(2-aminoéthyl)pyridine sont ajoutés à l'acide. La solution est agitée à la température de la pièce jusqu'à la disparition complète du produit de départ détecté par CCM. La solution est diluée dans de l'acétate d'éthyle et est lavé avec 4 portions de 50 mL d'eau. La phase organique est séchée, filtrée et évaporée. Le produit est purifié par chromatographie sur couche mince préparative (dichlorométhane/méthanol; 97/3) et élué trois fois permettant d'obtenir 36,5 mg d'acide trans-4-(4-androstèn-17β-acétoxy-3-one-7α-yl)-but-2-énoïque N-2-pyridyléthylamide (**17**) pour un rendement de 28 % sous forme d'une huile visqueuse.

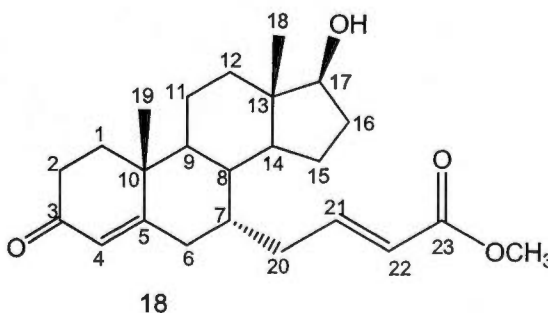
IR (ATR, ν_{\max} , cm^{-1}): 3292 (NH), 1729 (C=O, acétate), 1668 (C=O, amide et énone), 1593 (C=C), 1245 (C-O)

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 8,54 (1H, d, $J=4,3$ Hz, e-CH), 7,61 (1H, t, $J=7,6$ Hz, c-CH), 7,17 (1H, d, $J=7,5$ Hz, b-CH), 7,16 (1H, m, d-CH), 6,63 (2H, m, 21-CH et NH), 5,72 (1H, d, $J=15,2$ Hz, 22-CH), 5,66 (1H, s, 4-CH), 4,60 (1H, t, $J=8,4$, 17-CH), 3,74 (2H, m, 24- CH_2), 3,01 (2H, t, $J=6,3$, 25- CH_2), 2,03 (3H, s, 17-OAc), 1,19 (3H, s, 19- CH_3), 0,84 (3H, s, 18- CH_3), 1,00-2,60 (20H, # m, protons restants du stéroïde)

RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 199,1 (C-3), 171,1 (17-OAc), 168,9 (C-5), 165,4 (C-23), 159,6 (C-a), 149,2 (C-21), 142,5 (C-e), 136,7 (C-c), 126,0 (C-22), 125,8 (C-b), 123,5 (C-4), 121,6 (C-d), 82,3 (C-17), 47,1 46,1 42,6 38,7 38,6 38,1 36,8 36,4 36,3 35,9 35,6 33,9 29,7, 27,3 22,8 21,1 20,7 17,9 11,9

ESI + SMHR ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: Calculée pour $\text{C}_{32}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}_4$ = 519,3142; trouvée = 519,3215

5.12 Synthèse de l'ester méthylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**18**)



L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) (118,3 mg, 0,29 mmol) est dissous dans 5 mL de méthanol. L'acide chlorhydrique 5N (350 μL , 11,42 mmol) est ajoutée et la solution est portée à reflux jusqu'à disparition complète du produit de départ tel qu'observé par CCM. La solution est diluée dans de l'éther. La phase étherée est lavée avec une solution saturée de carbonate

de sodium et ensuite lavée quatre fois avec de l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et évaporée. Le produit est purifié par chromatographie éclair (chloroforme/méthanol; 9,9/0,1) permettant d'obtenir 104,2 mg d'ester méthylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**18**) pour un rendement de 98 %.

PF: 136-141°C

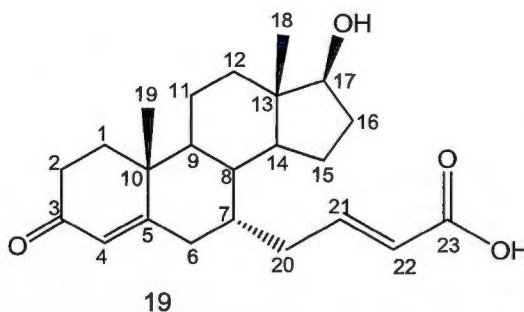
IR (ATR, ν_{\max} , cm^{-1}): 3455 (OH), 1720 (C=O, ester), 1655 (C=O, énone), 1607 (C=C), 1244 (C-O)

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 6,83 (1H, m, 21-CH), 5,80 (1H, d, $J=15,6$ Hz, 22-CH), 5,71 (1H, s, 4-CH), 3,73 (3H, s, 24-CH $_3$) 3,66 (1H, t apparent, $J=8,2$ Hz, 17-CH), 1,21 (3H, s, 19-CH $_3$), 0,81 (3H, s, 18-CH $_3$), 1,00-2,60 (21H, # m, protons restants du stéroïde)

RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 199,0 (C-3), 168,5 (C-23), 166,8 (C-5), 147,7 (C-21), 126,3 (C-22), 122,8 (C-4), 81,5 (C-17), 51,5 (C-24), 47,1, 46,2, 42,9, 38,7, 38,4, 36,4, 36,2, 36,0, 35,8, 34,0, 30,2, 28,8, 22,7, 20,8, 17,9, 11,0

ESI + SMHR ($M + H$) $^+$: Calculée pour $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{O}_4$ = 387.2530; trouvée = 387.2526

5.13 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**19**)



L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**6**) (118,3 mg, 0,29 mmol) est dissous dans 6 mL de THF et 3 mL d'eau. Une solution de 0,01g/mL

de NaOH (3,35 mL) est ajoutée puis la solution est portée à la température du reflux jusqu'à la disparition du produit de départ détecté par CCM (environ 6 heures). Le THF est évaporé sous évaporateur rotatif puis une solution aqueuse de HCl est ajoutée jusqu'à obtention d'un pH acide. La solution est diluée dans de l'acétate d'éthyle et est lavé avec quatre portions d'eau. La phase organique est séchée, filtrée et évaporée. Cet acide déprotégé ne nécessite pas de purification. La réaction a permis d'obtenir 105,7 mg d'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**19**) pour un rendement brut de 99 %.

PF: 95-102°C

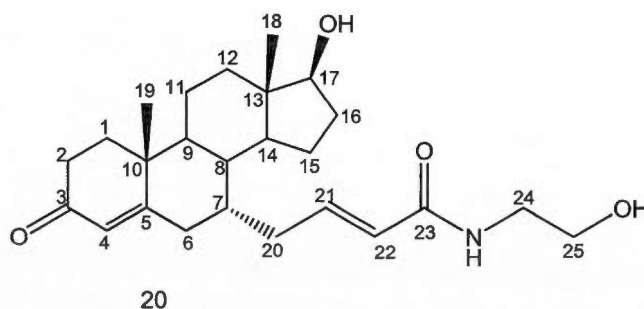
IR (ATR, ν_{\max} , cm^{-1}): 3700-3100 (COOH, OH), 1695 (C=O, acide), 1651 (C=O, ènone), 1240 (C-O)

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 6,91 (1H, m, 21-CH), 5,81 (1H, d, $J=15,6$ Hz, 22-CH), 5,80 (2H, sl, -COOH et OH), 5,73 (1H, s, 4-CH), 3,67 (1H, t apparent, $J=7,9$ Hz, 17-CH), 1,20 (3H, s, 19-CH $_3$), 0,80 (3H, s, 18-CH $_3$), 1,00-2,60 (22H, # m, protons restants du stéroïde)

RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 199,5 (C-3), 170,4 (C-23), 169,0 (C-5), 149,8 (C-21), 126,2 (C-22), 122,7 (C-4), 81,5 (C-17), 47,2, 46,2, 42,9, 38,7, 38,4, 36,5, 36,1, 35,9, 35,8, 33,9, 30,1, 28,9, 22,7, 20,8, 17,9, 11,0

ESI + SMHR ($M + H$) $^+$: Calculée pour $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{O}_4$ = 373.2373; trouvée = 373.2372

5.14 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (**20**)



L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (19) (102,2 mg, 0,27 mmol) est dissous dans 1 mL de DMF, l'éthanolamine (20,8 mg, 0,34 mmol) est diluée dans 1 mL de DMF dans un autre ballon. Le DCC (65,6 mg, 0,32 mmol), le HOBt (40,9 mg, 0,30 mmol) et l'éthanolamine sont ajoutés à l'acide. La solution est agitée à la température de la pièce jusqu'à la disparition complète du produit de départ détecté par CCM. La solution est diluée dans de l'acétate d'éthyle et est lavé quatre fois avec de l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et évaporée. Le produit est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 5,5/4,5) permettant d'obtenir 50,2 mg d'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (20) pour un rendement de 44 % sous forme d'une huile visqueuse.

IR (ATR, ν_{\max} , cm^{-1}): 3650-3100 (OH et NH), 1657 (C=O, amide et énone), 1220 (C-O)

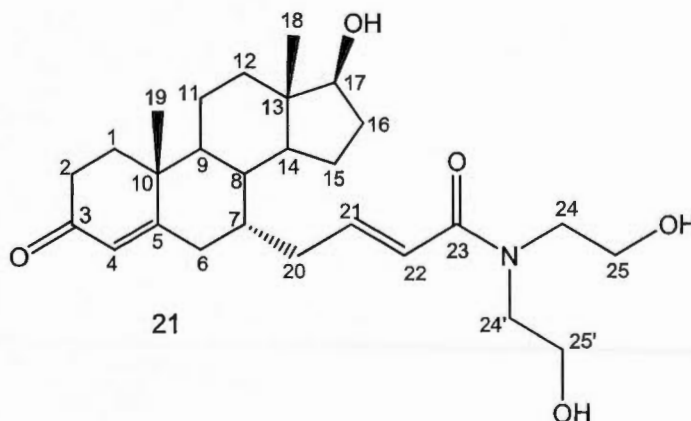
RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 6,72 (1H, m, 21-CH), 6,41 (1H, t apparent $J=5,5$ Hz, NH), 5,77 (1H, d, $J=14,1$ Hz, 22-CH), 5,67 (1H, s, 4-CH), 3,75 (2H, t, $t=4,7$ Hz, 25- CH_2), 3,66 (1H, t, $J=8,2$ Hz, 17-CH), 3,47 (2H, m, 24- CH_2), 1,21 (3H, s, 19- CH_3), 0,80 (3H, s, 18- CH_3), 1,00-2,60 (22H, # m, protons restants du stéroïde)

RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 199,6 (C-3), 169,5 (C-23), 166,6 (C-5), 143,5 (C-21), 126,0 (C-22), 125,3 (C-4), 81,5 (C-17), 62,4 (C-25), 47,6 (C-24), 46,3, 43,0, 42,6, 38,7, 38,4, 26,4, 36,2, 36,0, 35,5, 34,0, 30,3, 28,7, 22,7, 20,8, 18,0, 11,0

Note : Le signal situé à 29,7 ppm est associé à la graisse provenant de la pompe à vide.

ESI + SMHR ($M + H$) $^+$: Calculée pour $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{NO}_4 = 416.2795$; trouvée = 416.2791

5.15 Synthèse de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (**21**)



L'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**19**) (129,5 mg, 0,35 mmol) est dissous dans 1 mL de DMF, la diéthanolamine (40,0 mg, 0,38 mmol) est diluée dans 1 mL de DMF dans un autre ballon. Le DCC (81,1 mg, 0,39 mmol), le HOBt (51,7 mg, 0,38 mmol) et la diéthanolamine sont ajoutés à l'acide. La solution est agitée à la température de la pièce jusqu'à la disparition complète du produit de départ détecté par CCM. La solution est diluée dans de l'acétate d'éthyle et est lavé quatre fois avec de l'eau. La phase organique est séchée, filtrée et évaporée. Le produit est purifié par chromatographie éclair (hexanes/acétone; 5,5/4,5) permettant d'obtenir 86,6 mg d'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (**21**) pour un rendement de 25 % sous forme d'une huile visqueuse.

IR (ATR, ν_{max} , cm^{-1}): 3414 (OH), 1681 (C=O, amide), 1650 (C=O, ènone), 1619 (C=C), 1222 (C-O)

RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3 , δ ppm): 6,77 (1H, m, 21-CH), 6,30 (1H, d, $J=14,5$ Hz, 22-CH), 5,70 (1H, s, 4-CH), 3,64 (9H, m, 24-CH $_2$, 24'-CH $_2$, 25-CH $_2$, 25'-CH $_2$ et 17-CH), 1,21 (3H, s, 19-CH $_3$), 0,81 (3H, s, 18-CH $_3$), 1,00-2,60 (23H, # m, protons restants du stéroïde)

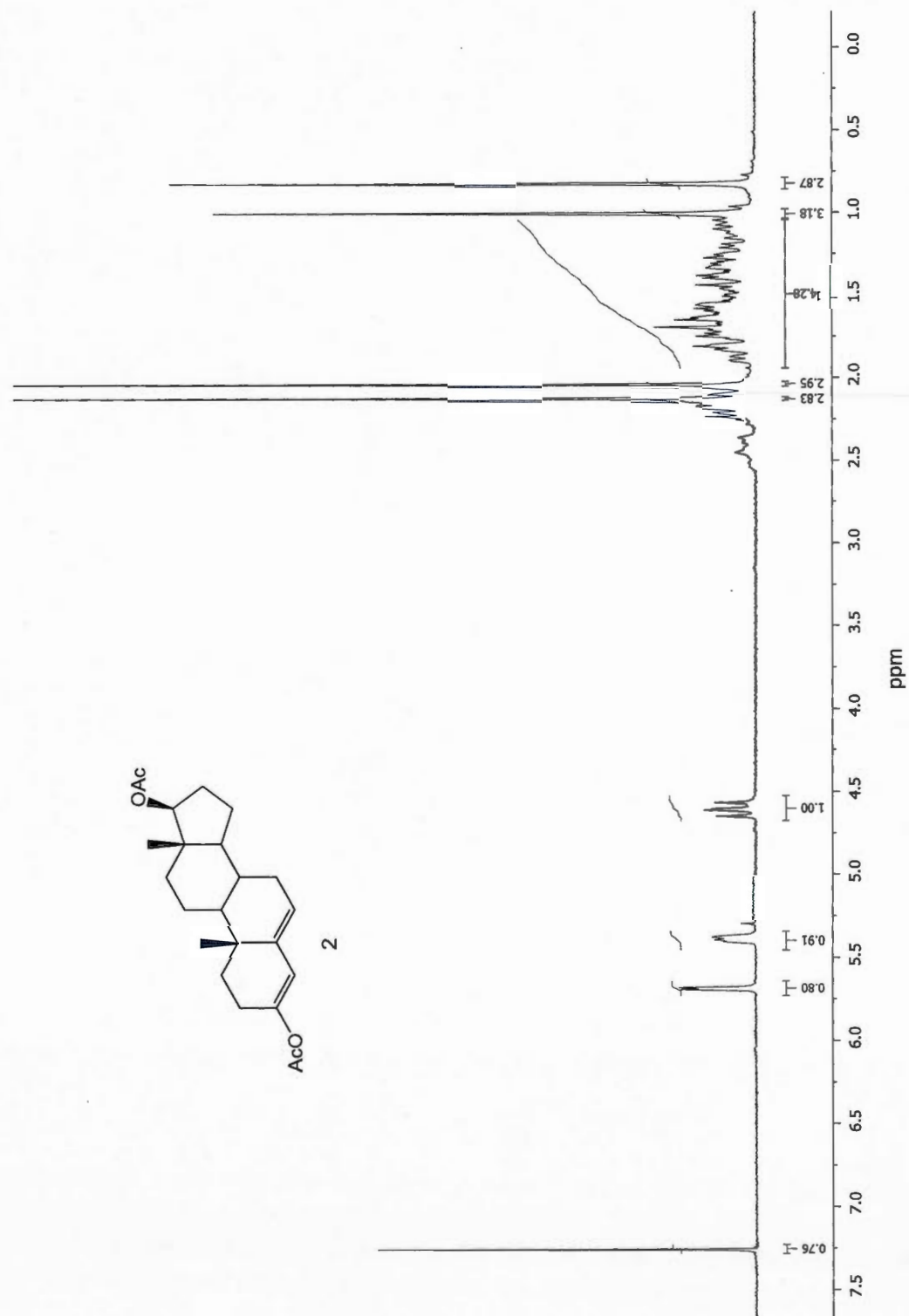
RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃, δ ppm): 200,1 (C-3), 169,7 (C-23), 168,4 (C-5), 145,2 (C-21), 125,9 (C-22), 122,8 (C-4), 81,5 (C-17), 62,2 (C-25), 60,5 (C-25'), 51,7 (C-24), 51,1 (C-24'), 47,5, 46,3, 43,0, 38,7, 38,6, 36,6, 36,2, 36,1, 35,2, 34,0, 30,3, 29,6, 22,7, 20,9, 18,1, 11,0

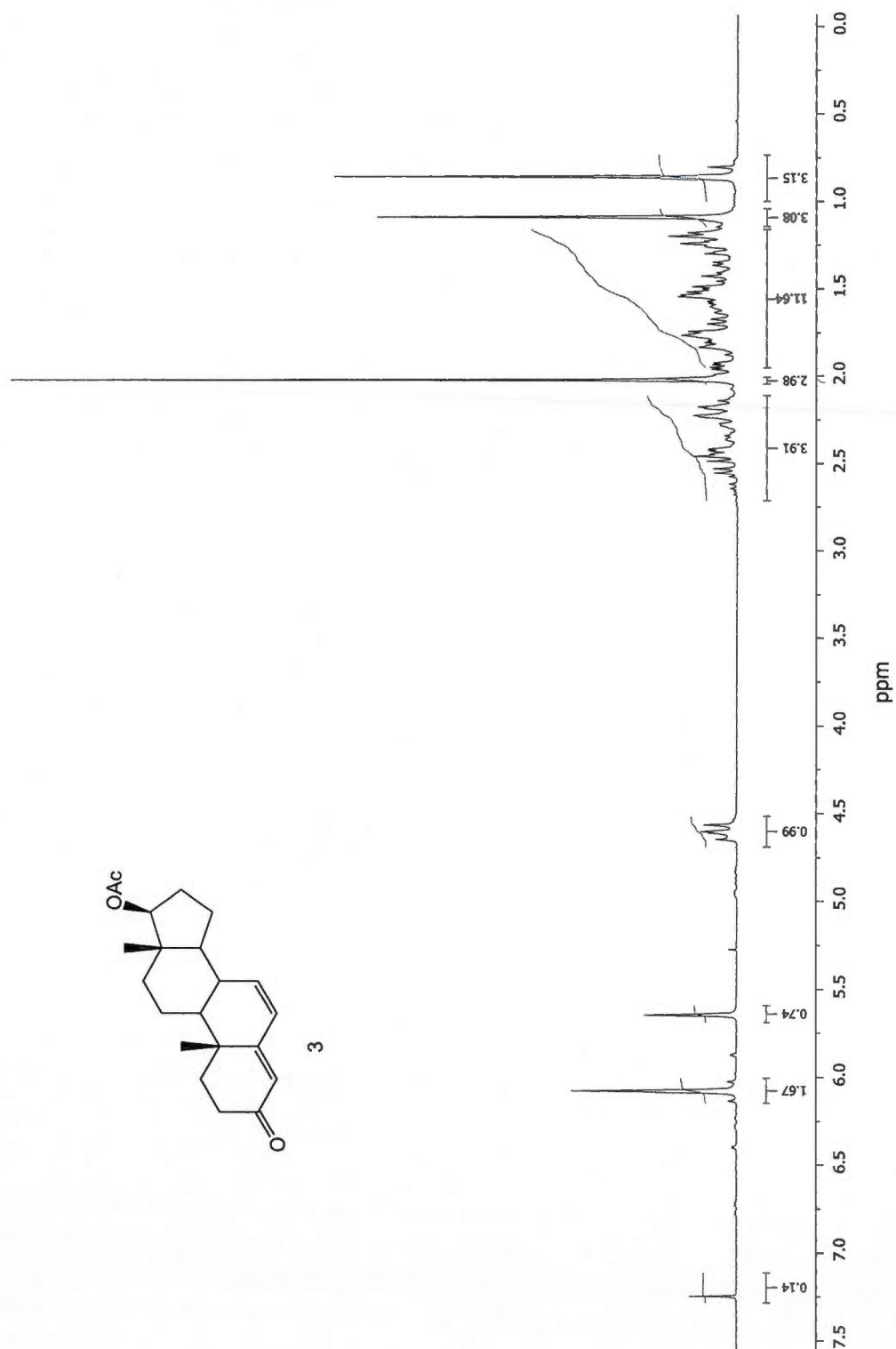
ESI + SMHR (M + H)⁺: Calculée pour C₂₇H₄₂NO₅ = 460.3057; trouvée = 460.3050

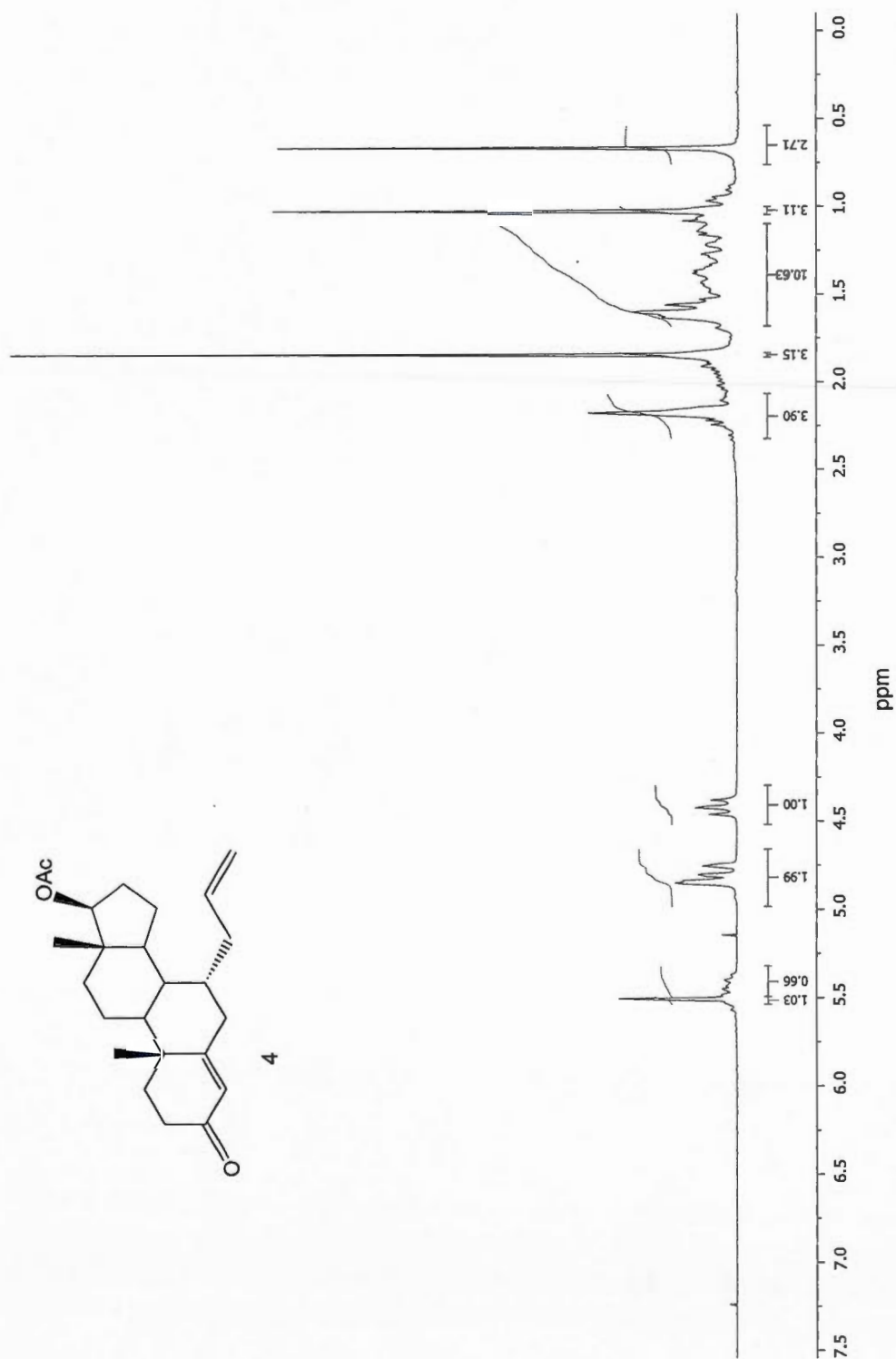
APPENDICE A

SPECTRES RMN-¹H ET RMN-¹³C

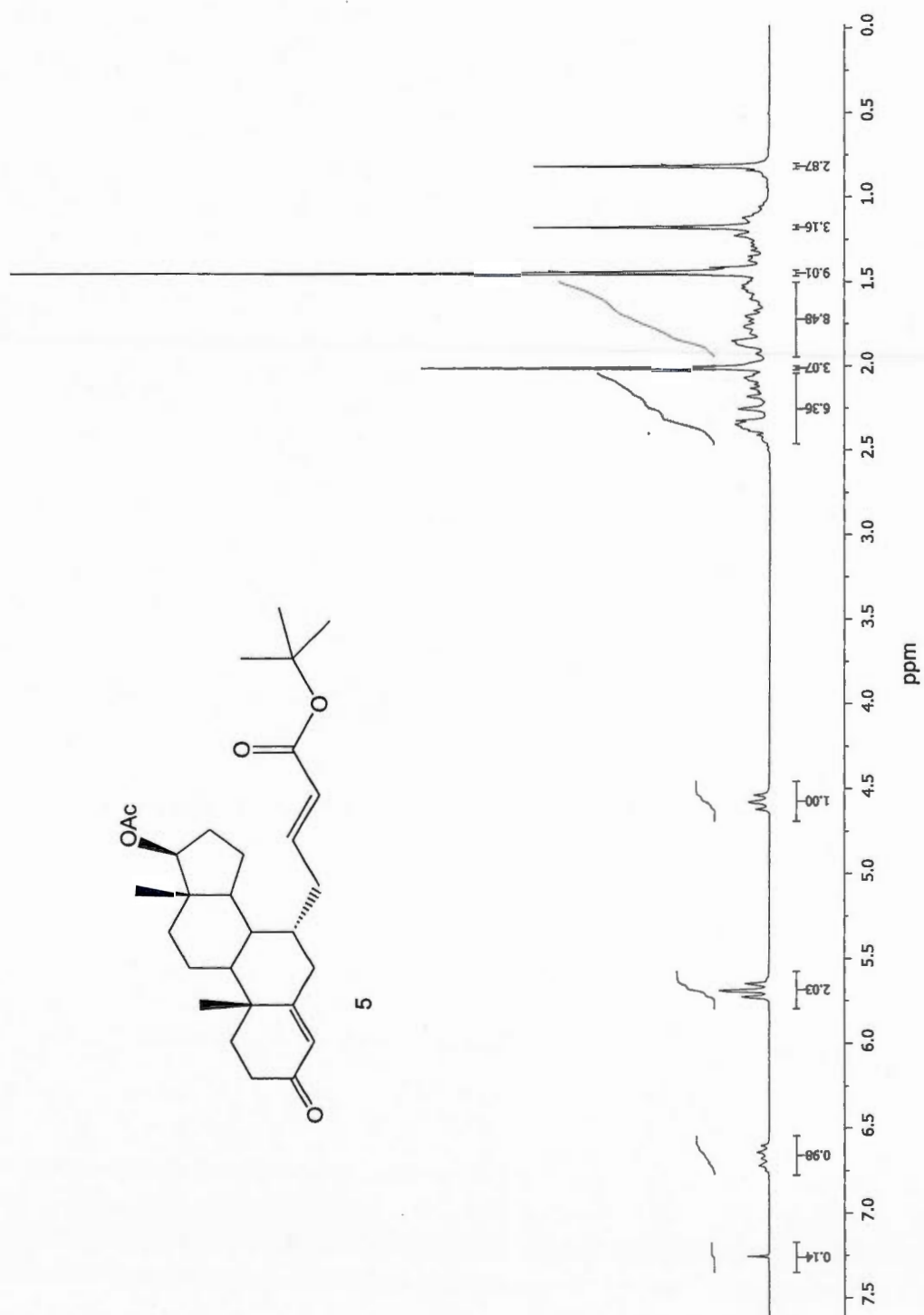
Les spectres RMN-¹H sont tous présentés selon l'ordre de leur numérotation suivi des spectres RMN-¹³C. Le solvant utilisé pour la solubilisation de tous les produits est le CDCl₃ permettant d'expliquer le pic à 7,26 ppm dans le spectre proton et les trois pics situés entre 77 et 80 ppm dans le spectre du carbone.

Spectre A.1 : RMN- ^1H du diacétate de 3,5-androstadièn-3,17 β -diol (**2**)

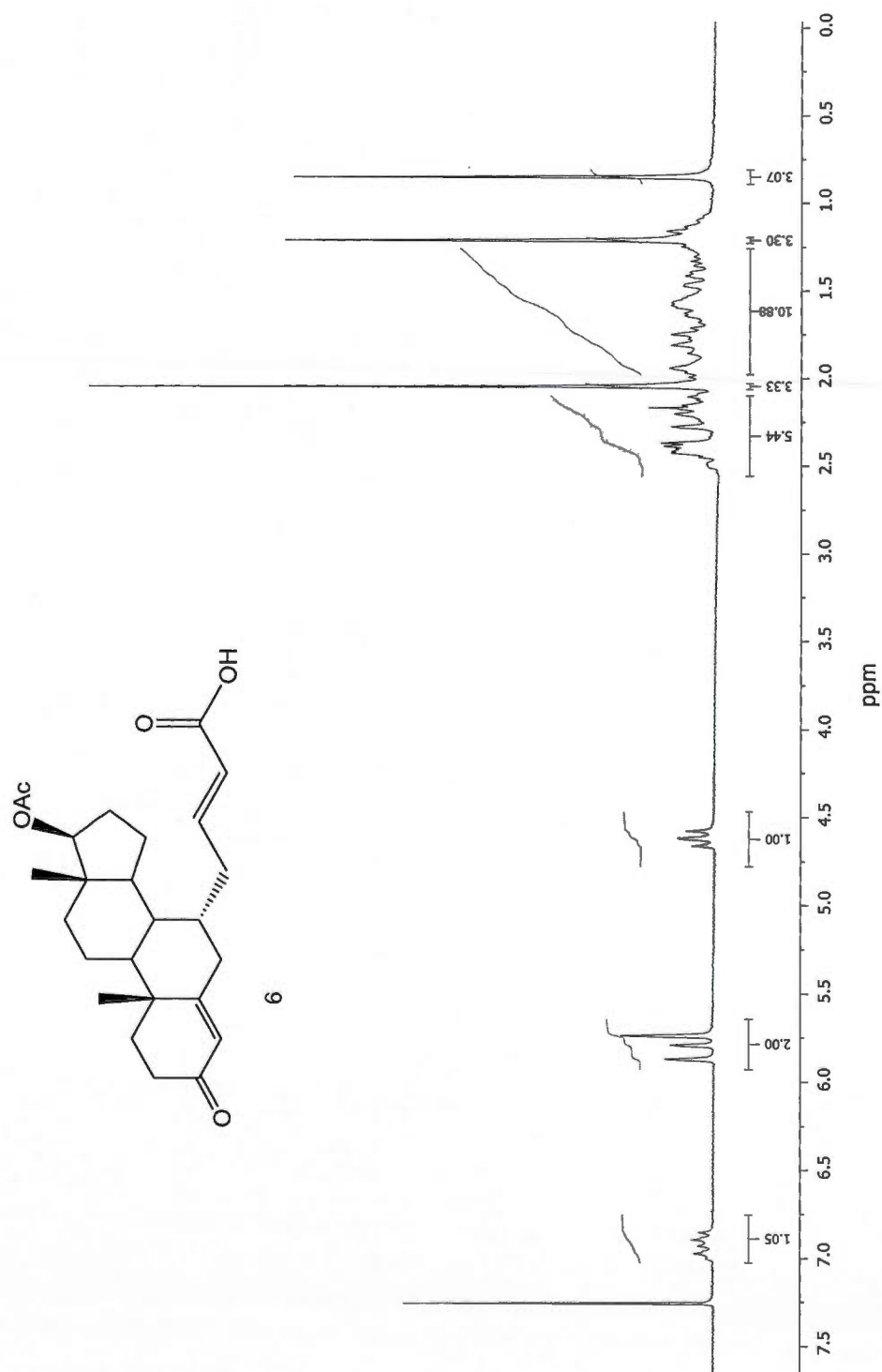
Spectre A.2 : RMN- ^1H de l'acétate de 4,6-androstadièn-17 β -ol-3-one (**3**)

Spectre A.3 : RMN- ^1H de l'acétate de 7 α -allyl-4-androstèn-17 β -ol-3-one (4)

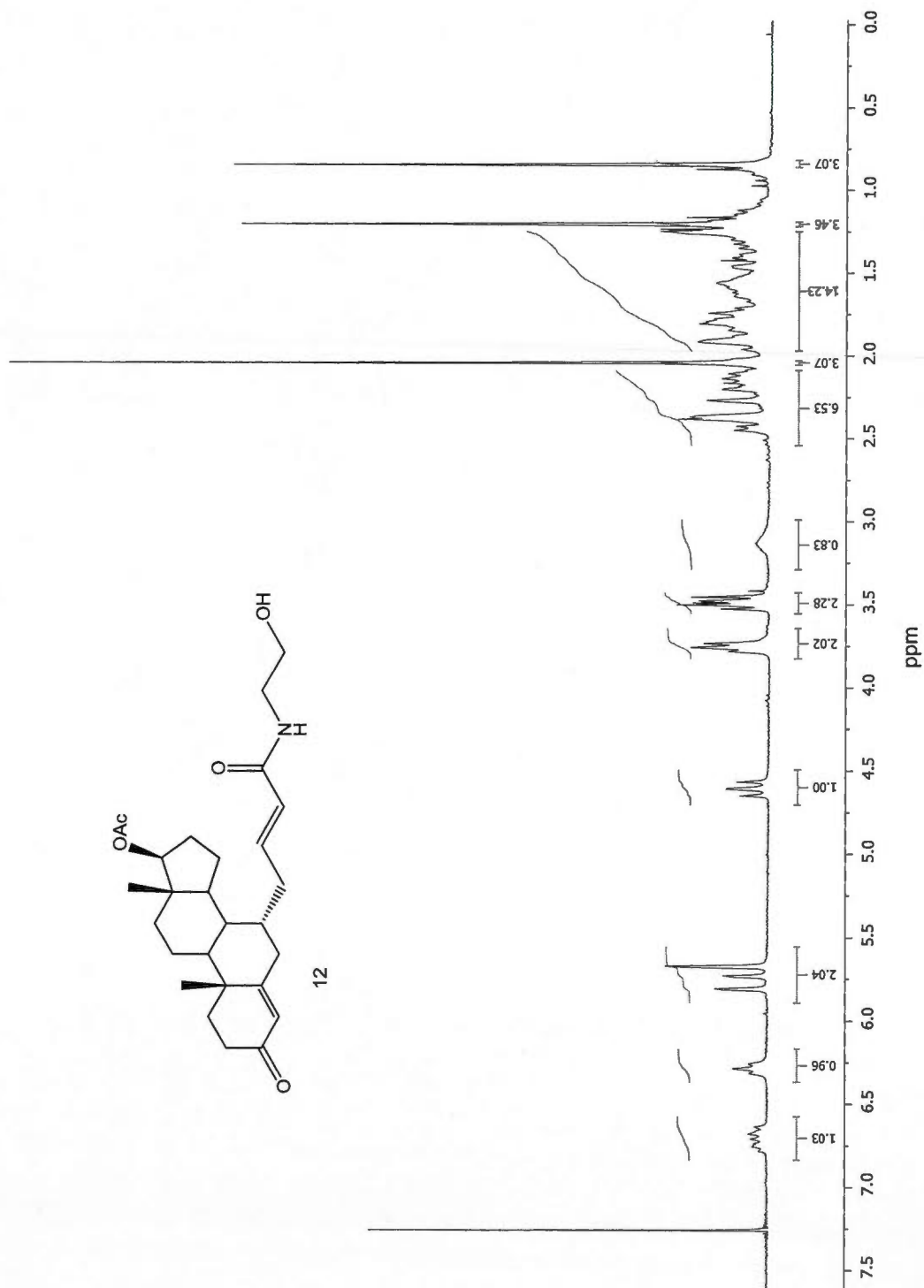
Spectre A.4 : RMN- ^1H de l'ester tert-butyle de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (5)



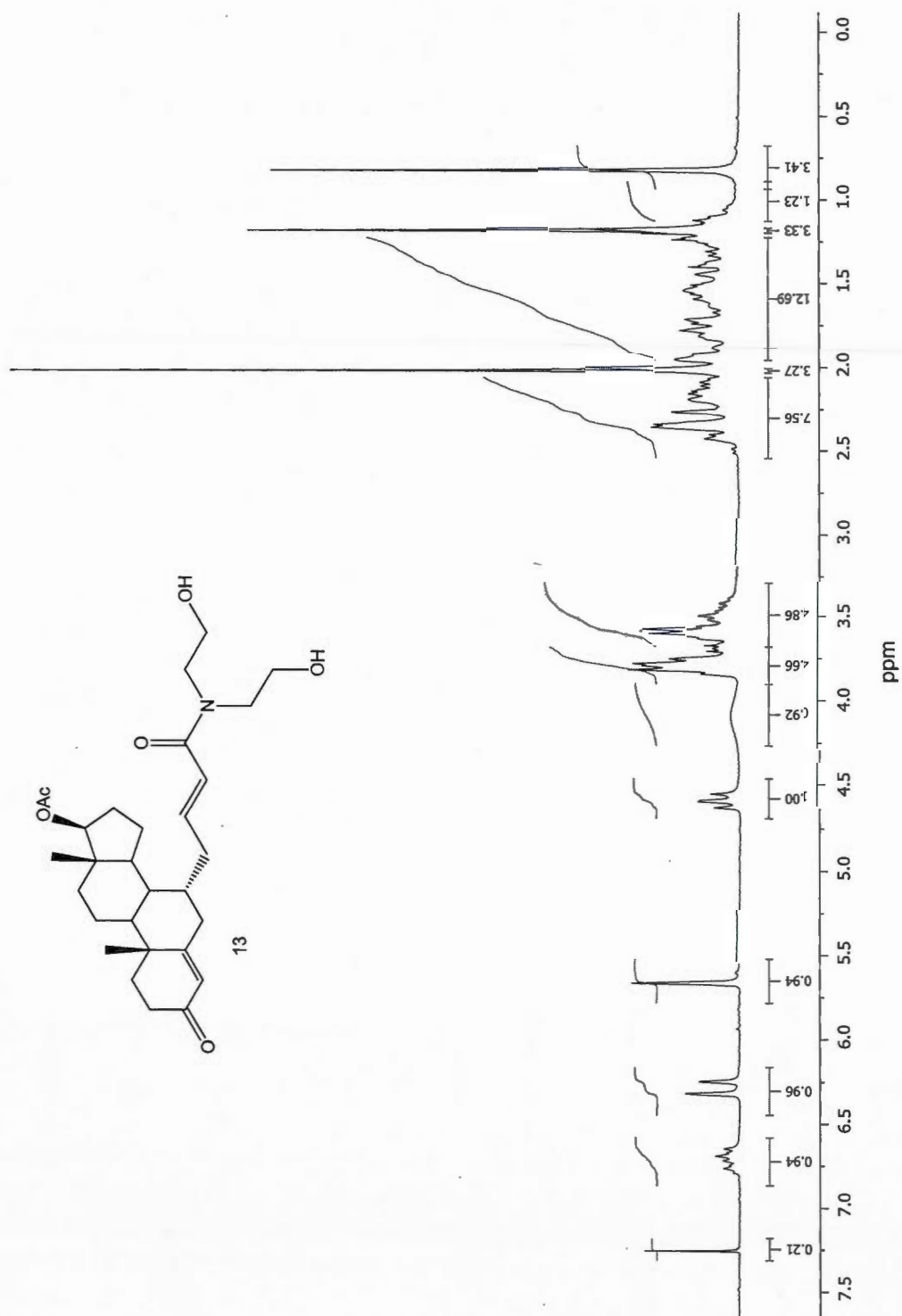
Spectre A.5 : RMN- ^1H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (6)



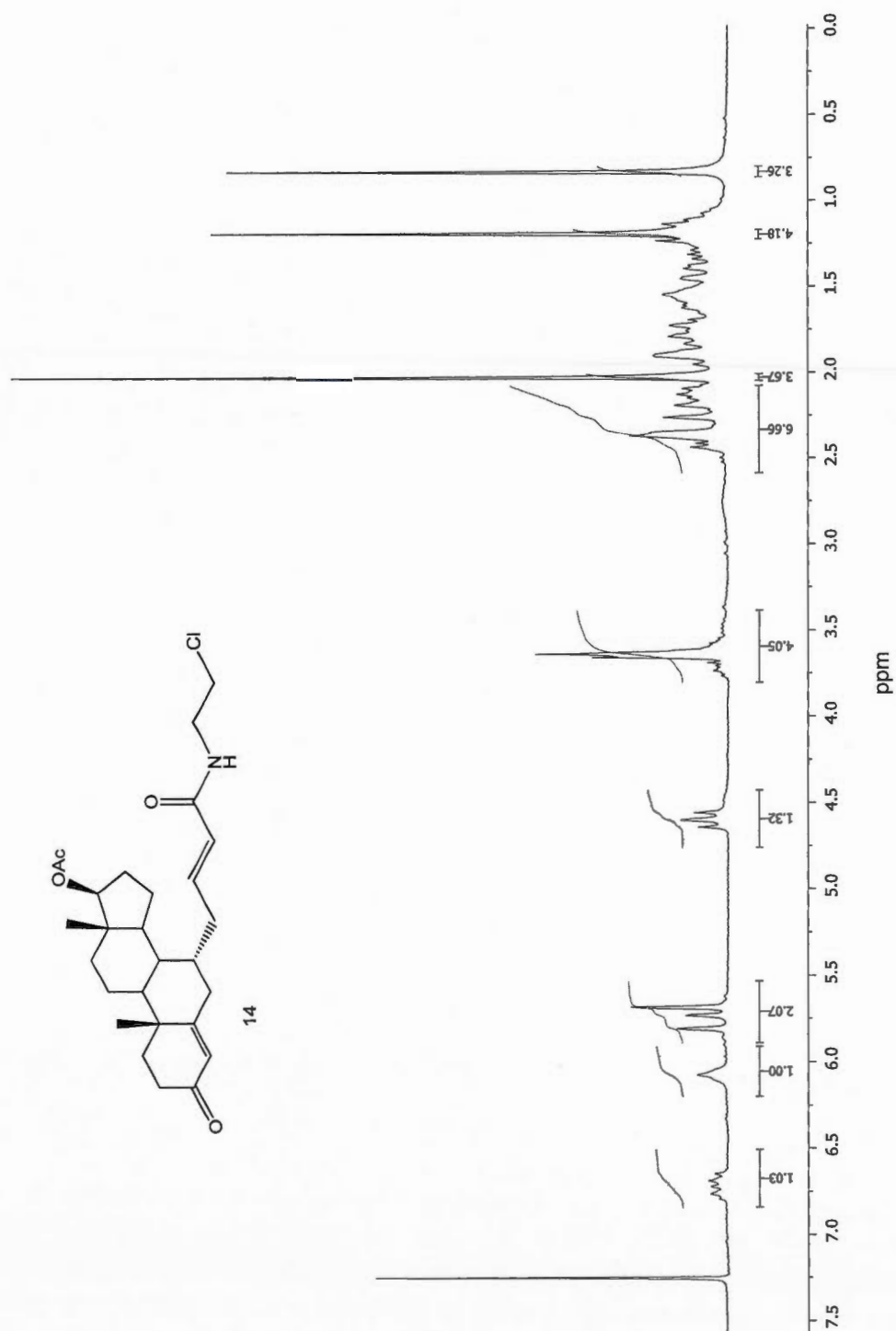
Spectre A.6 : RMN- ^1H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (**12**)



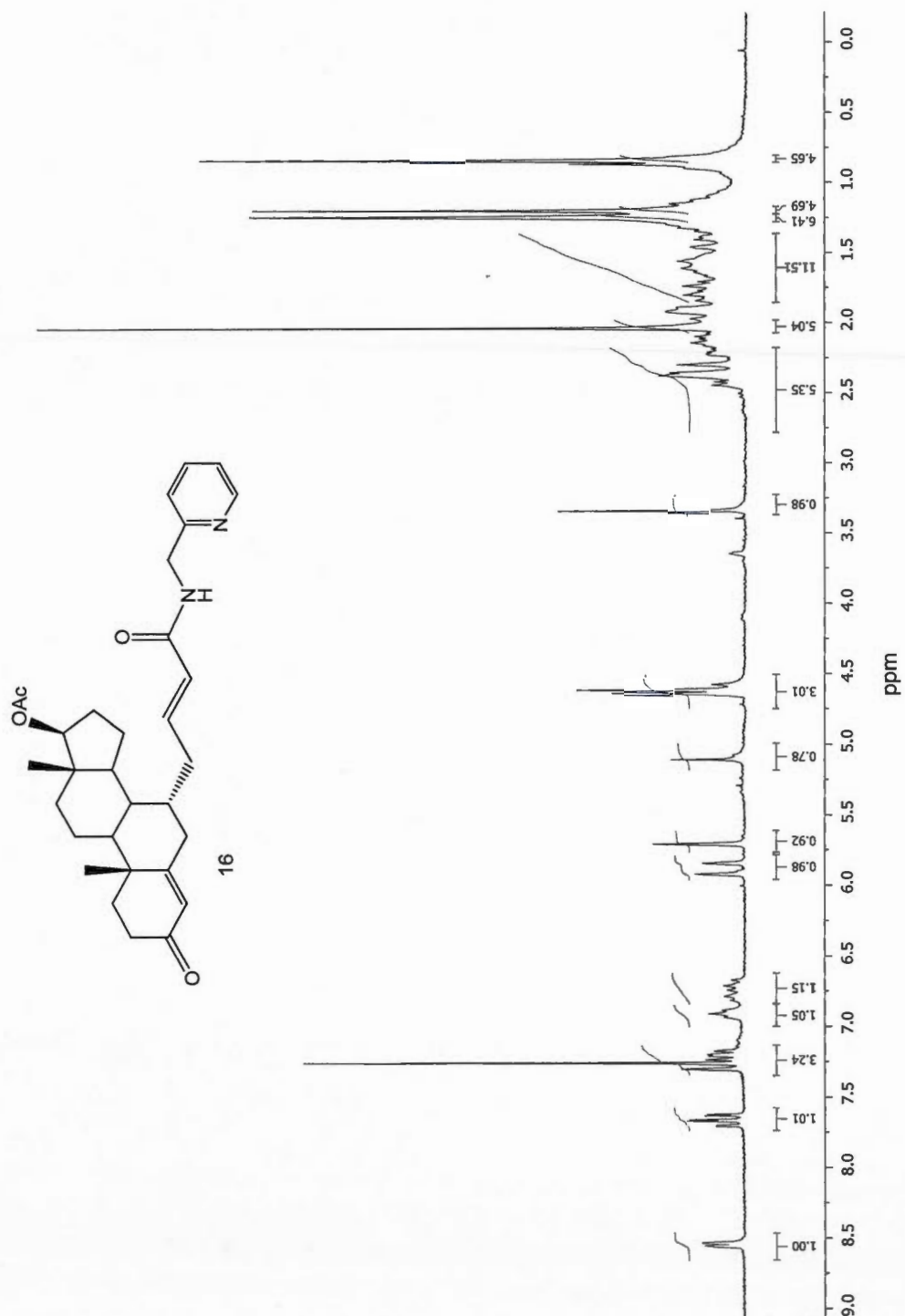
Spectre A.7 : RMN- ^1H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (**13**)



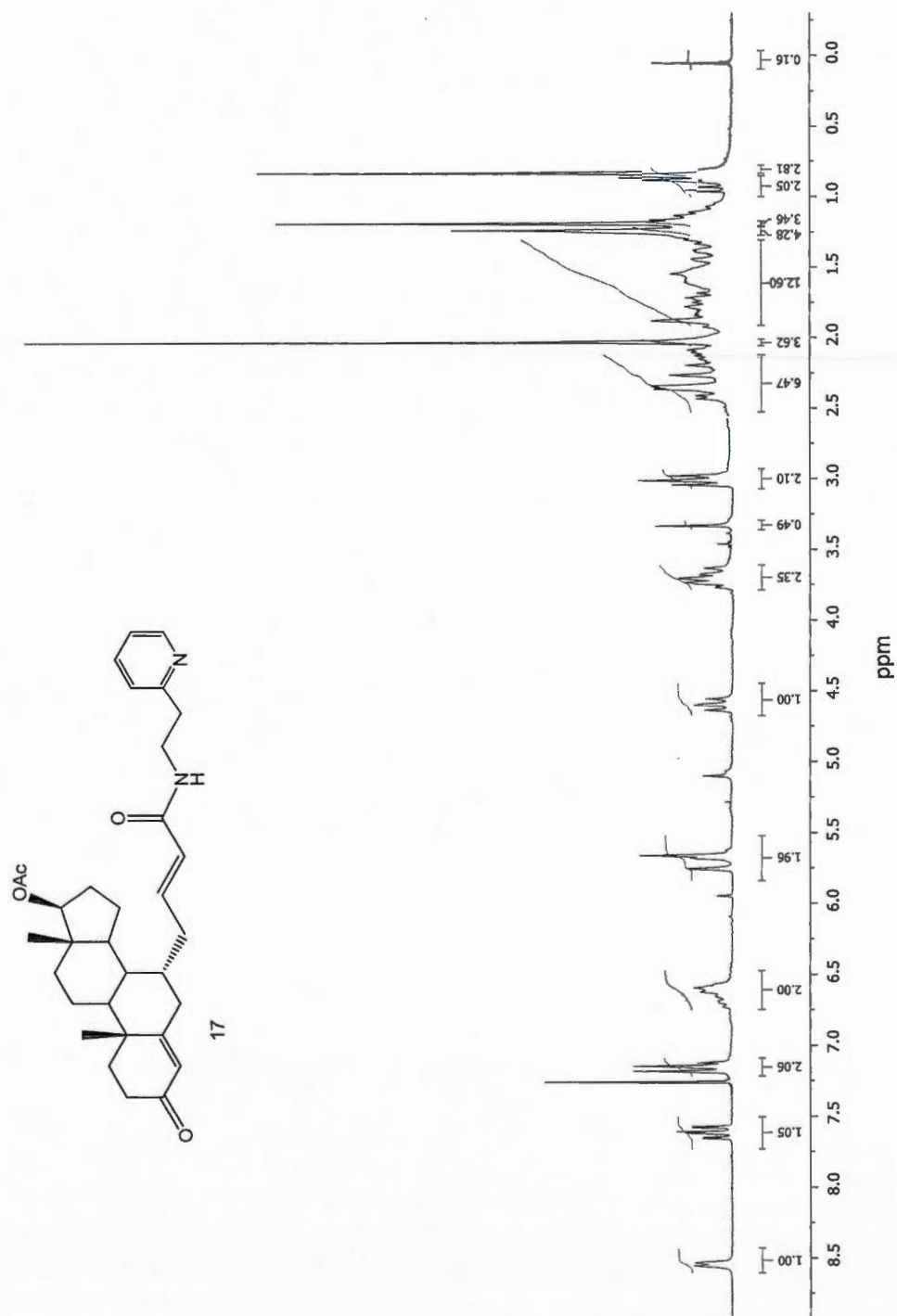
Spectre A.8 : RMN- ^1H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-chloroéthylamide (**14**)



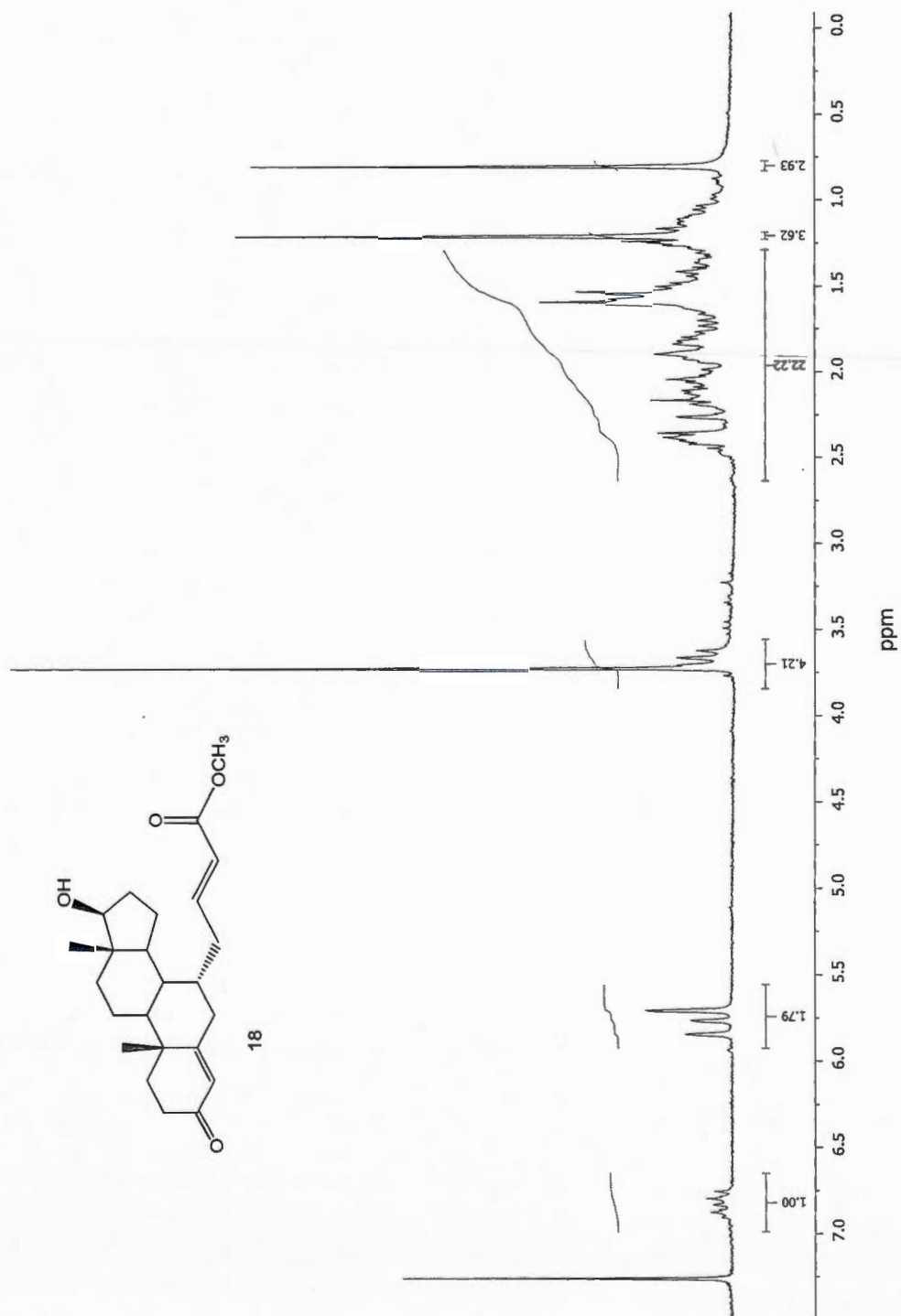
Spectre A.9 : RMN- ^1H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridylméthylamide (**16**)



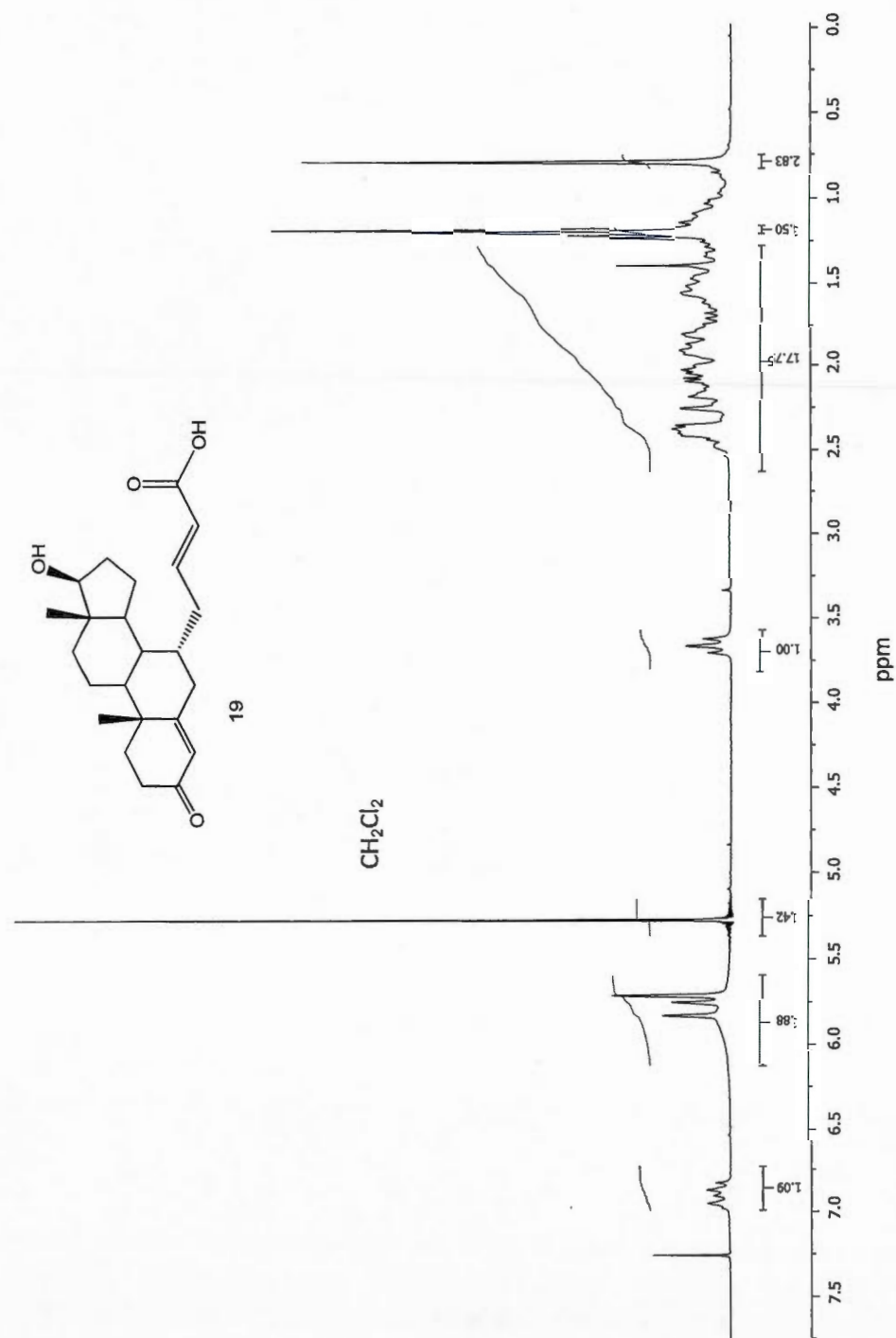
Spectre A.10 : RMN- ^1H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridyléthylamide (17)



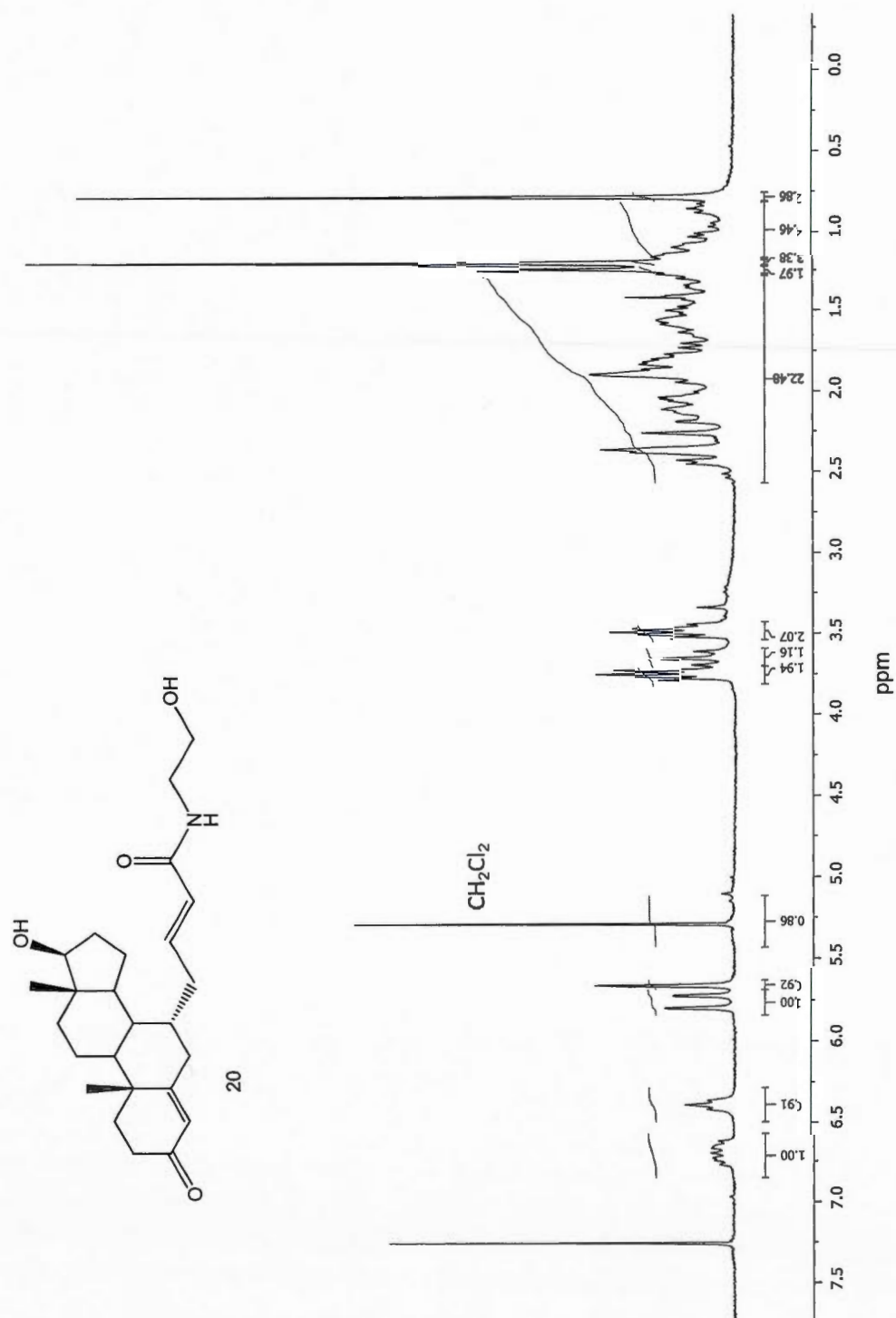
Spectre A.11 : RMN- ^1H de l'ester méthylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (18)



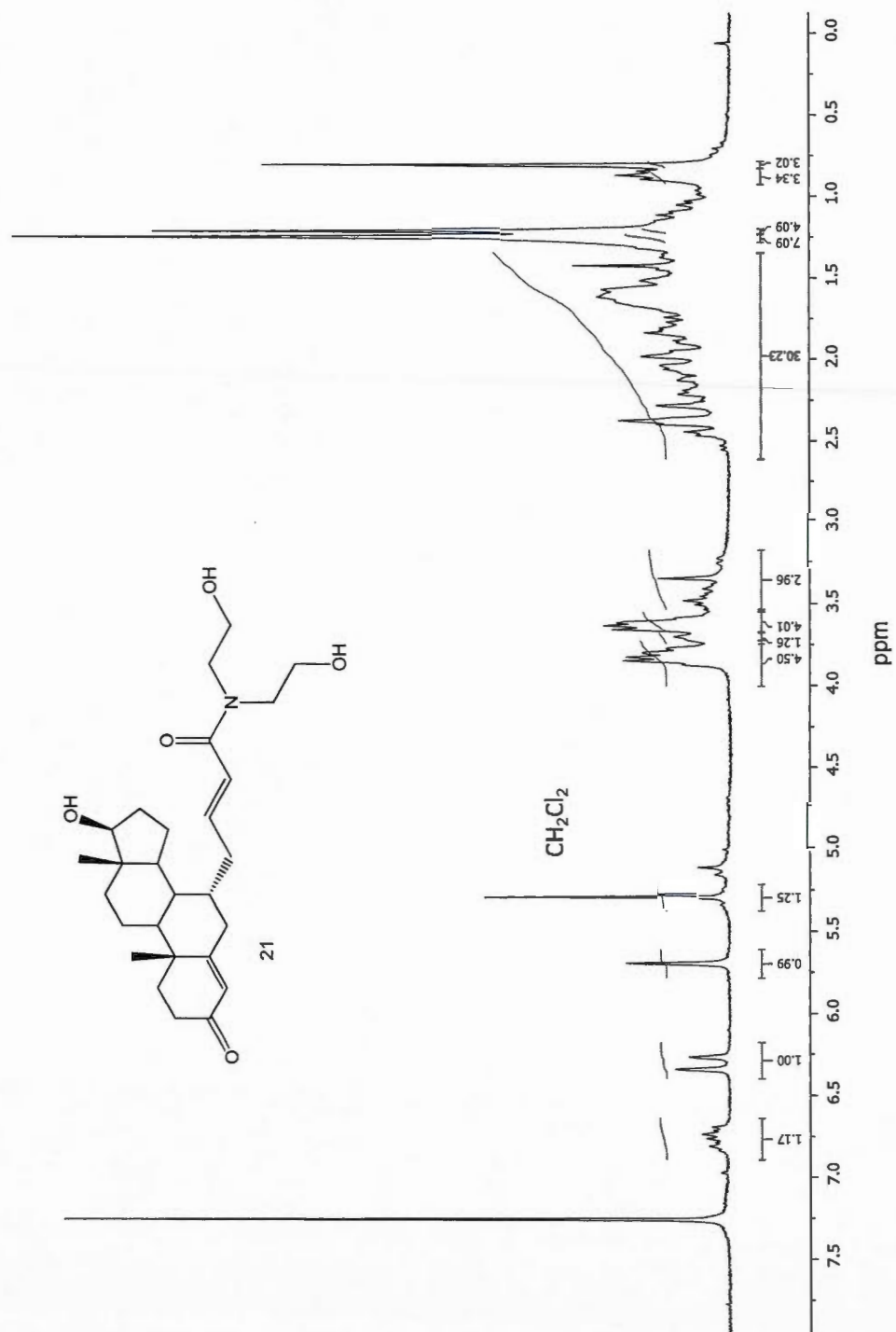
Spectre A.12 : RMN- ^1H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**19**)



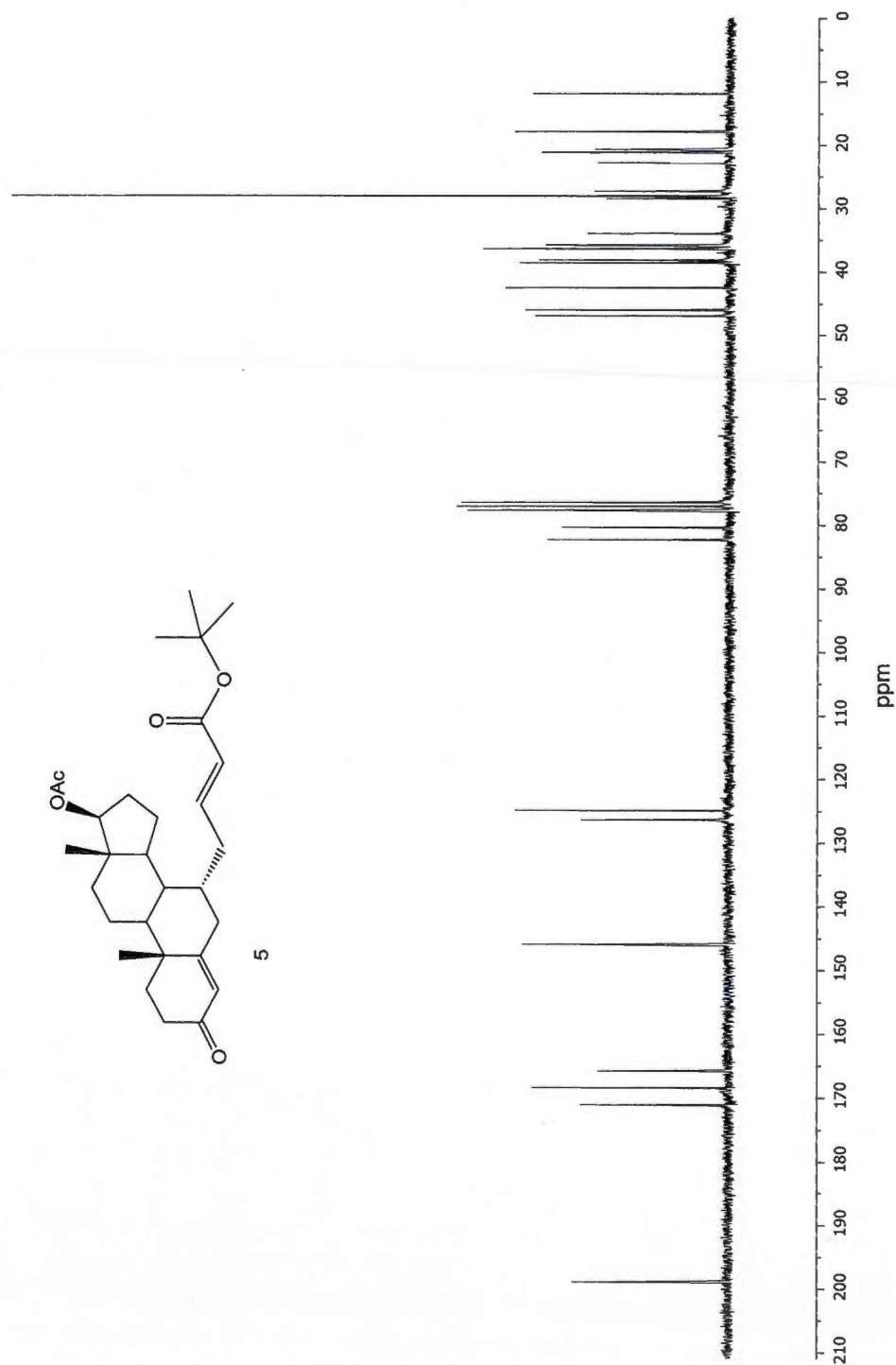
Spectre A.13 : RMN- ^1H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-éthanolamide (**20**)



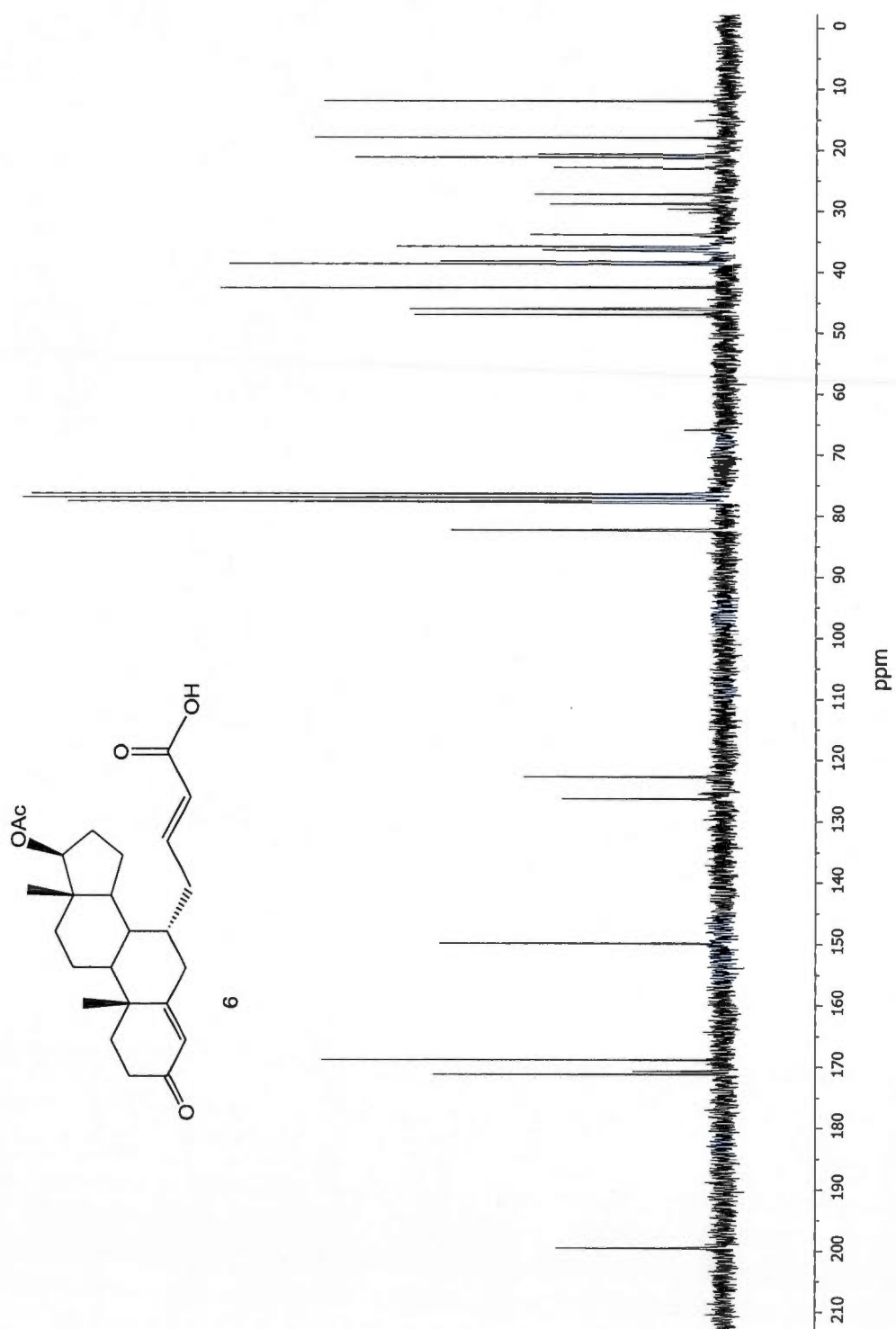
Spectre A.14 : RMN- ^1H de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (**21**)

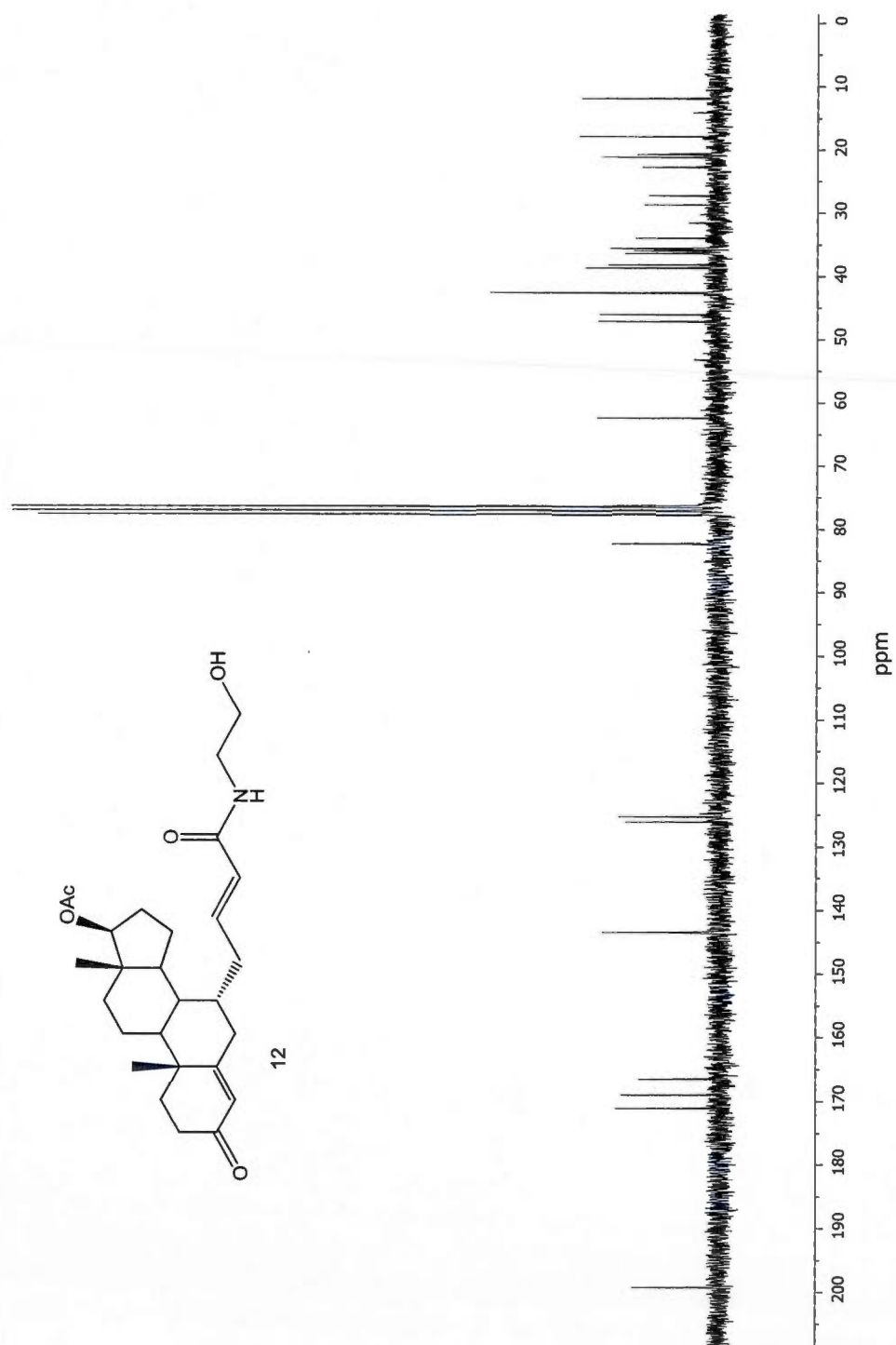


Spectre A.15 : RMN- ^{13}C de l'ester tert-butylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (5)

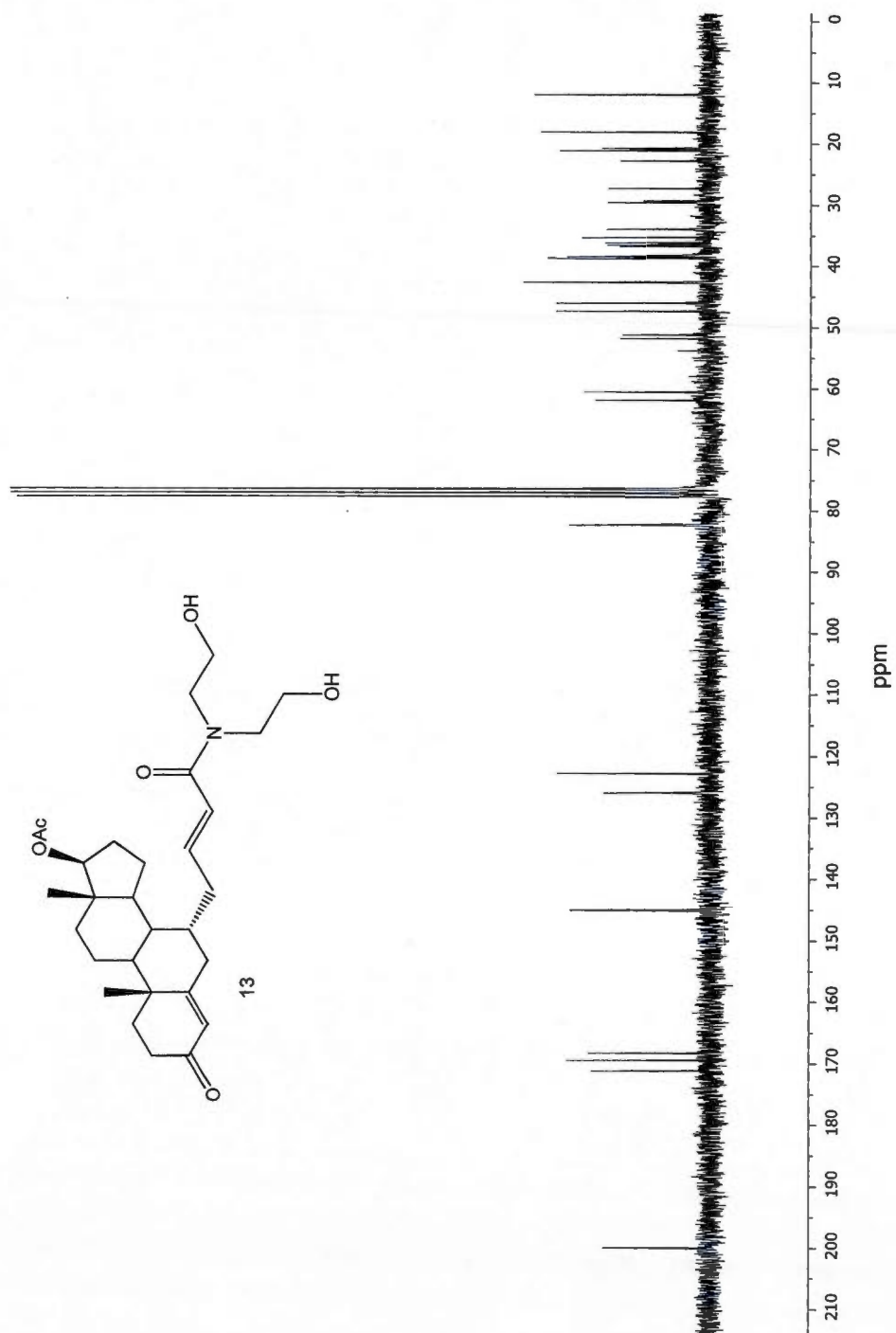


Spectre A.16 : RMN- ^{13}C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (6)

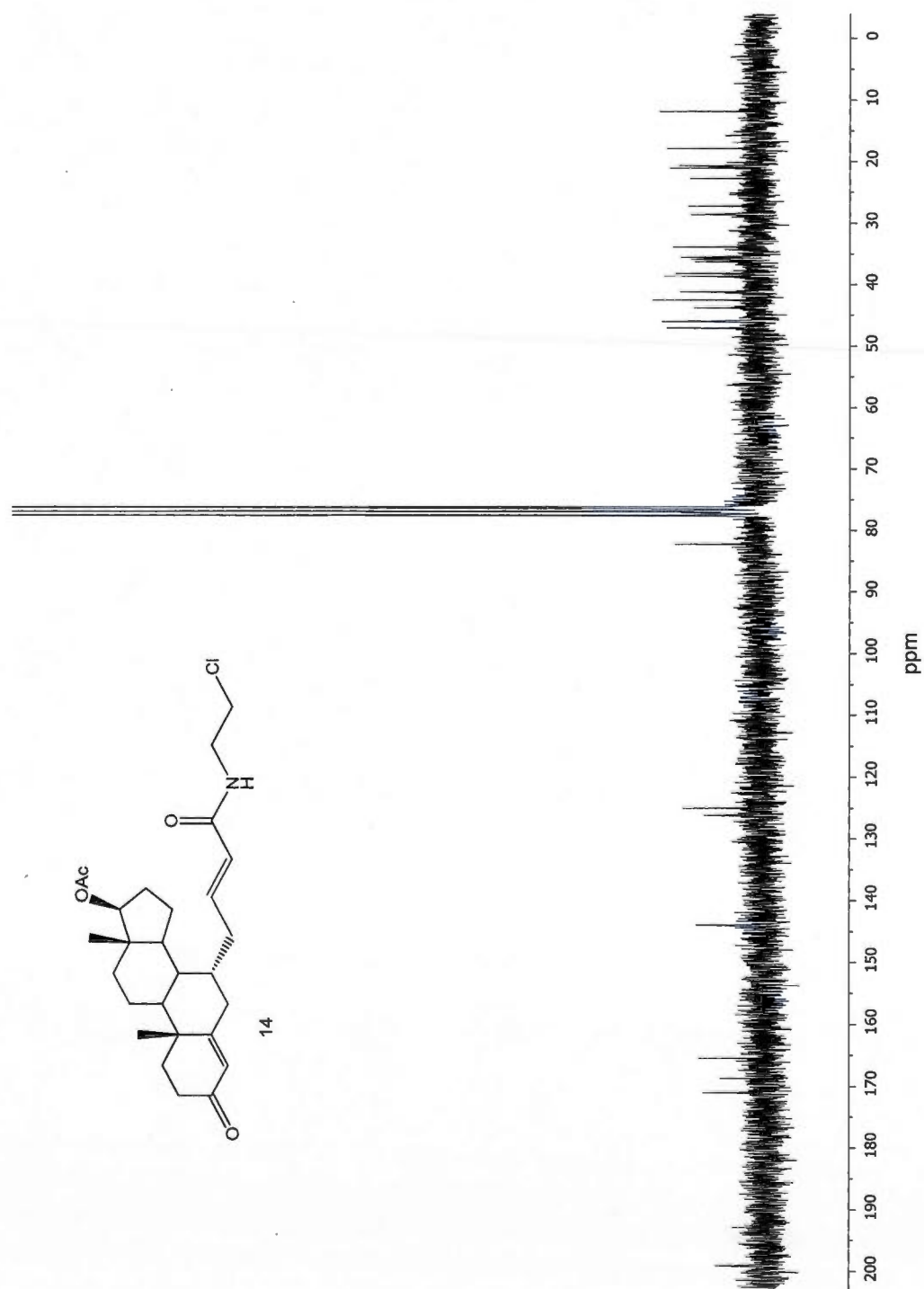




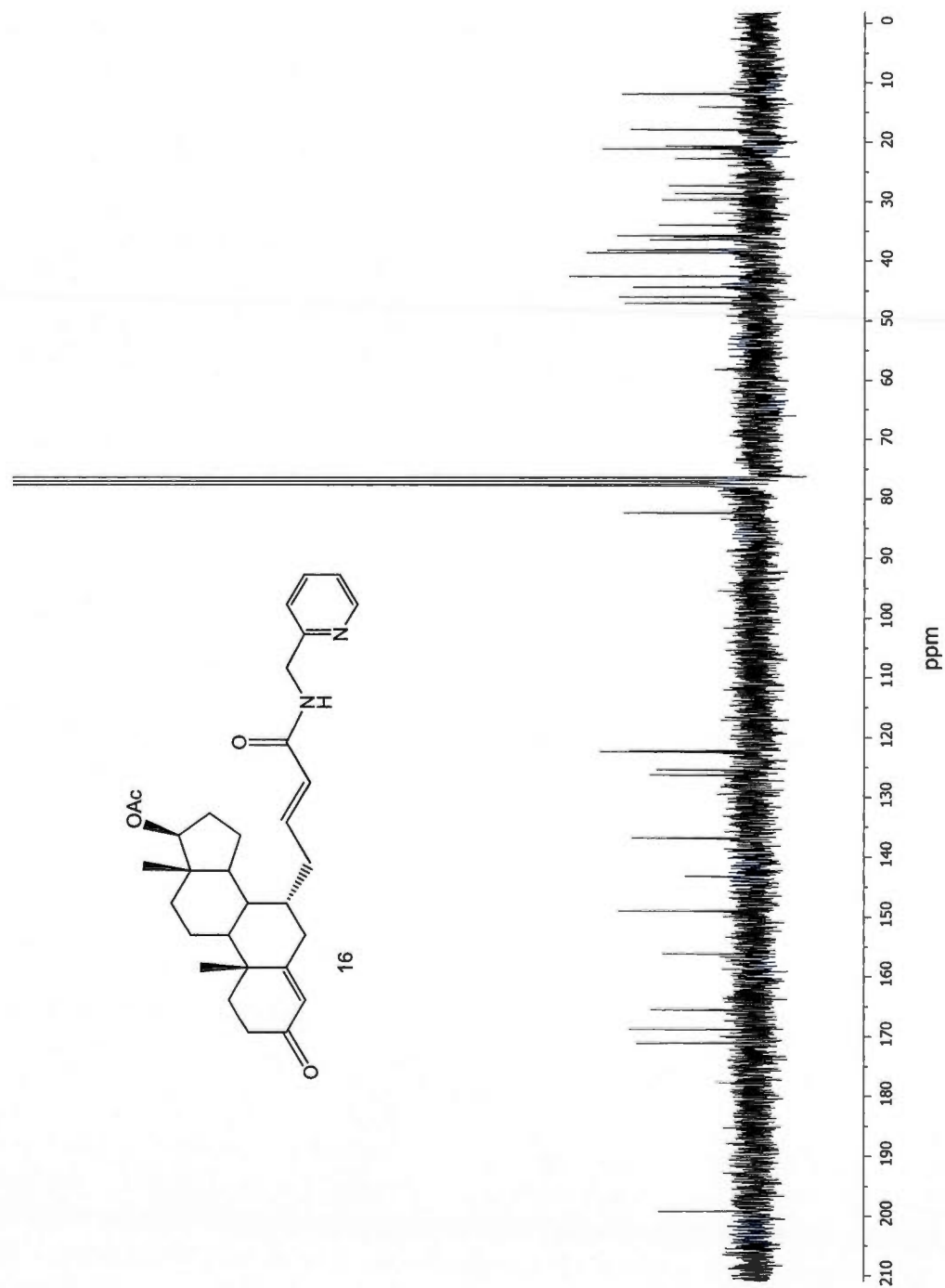
Spectre A.18 : RMN- ^{13}C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (**13**)



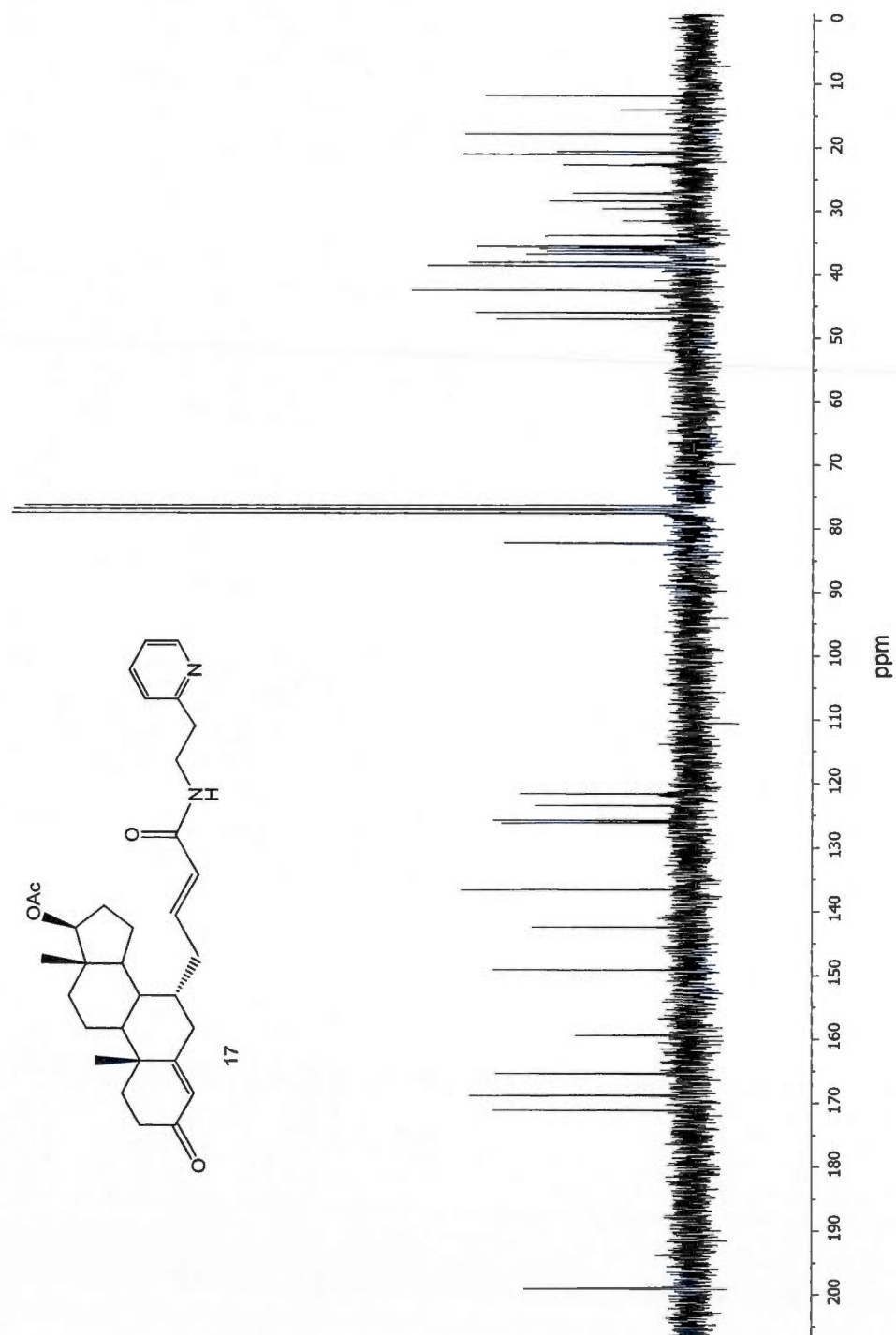
Spectre A.19 : RMN- ^{13}C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-chloroéthylamide (**14**)



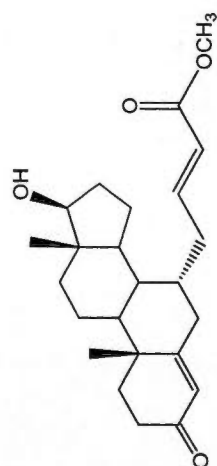
Spectre A.20 : RMN- ^{13}C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridylméthylamide (**16**)



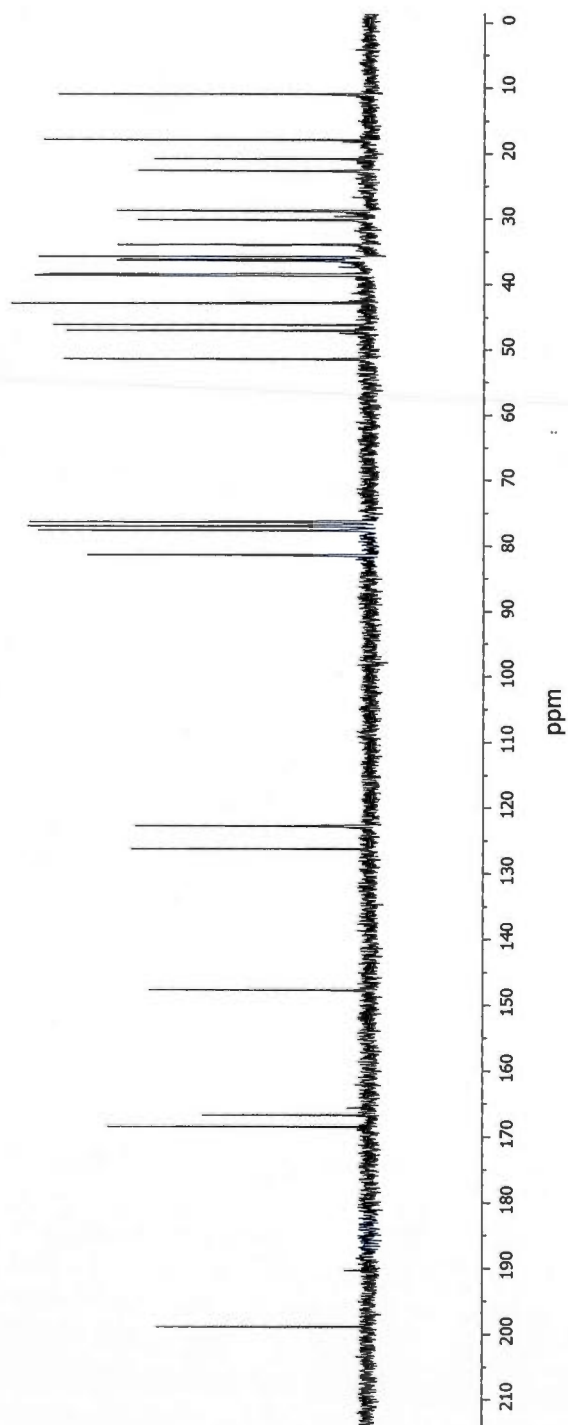
Spectre A.21 : RMN- ^{13}C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -acétoxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N-2-pyridyléthylamide (17)



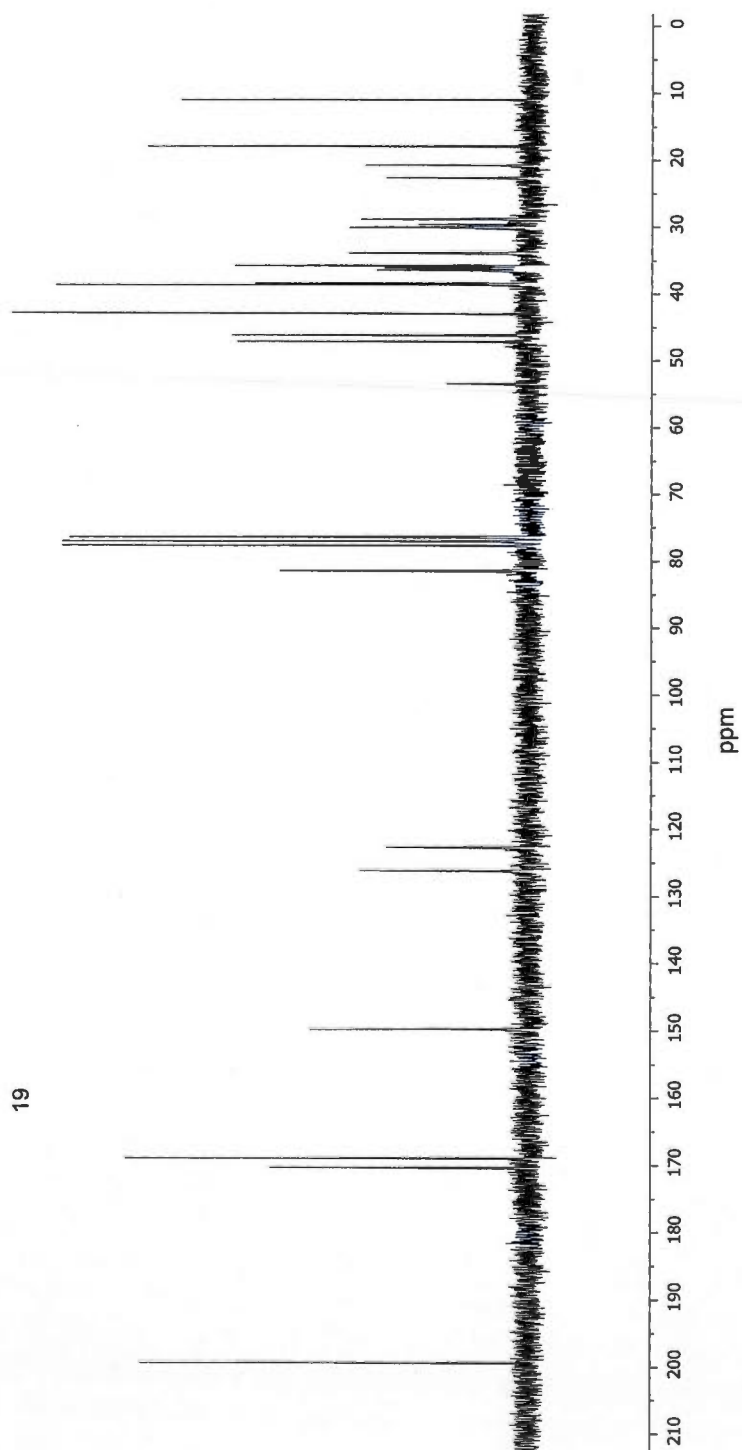
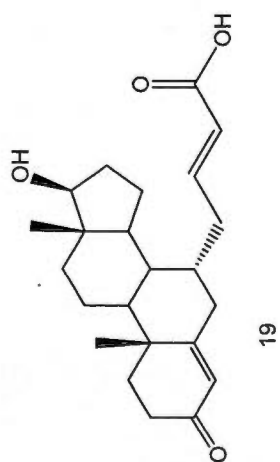
Spectre A.22 : RMN- ^{13}C de l'ester méthylique de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**18**)

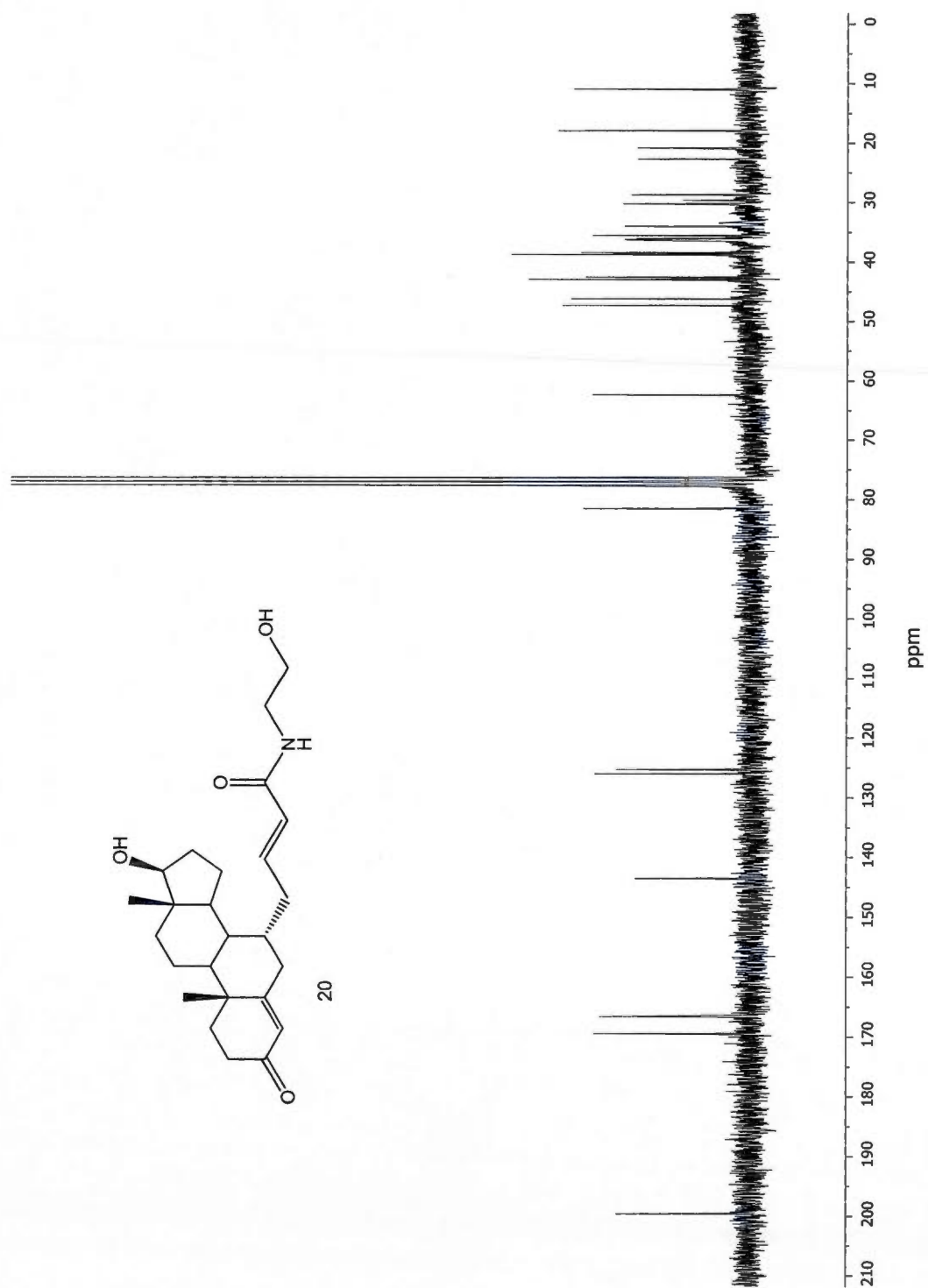


18

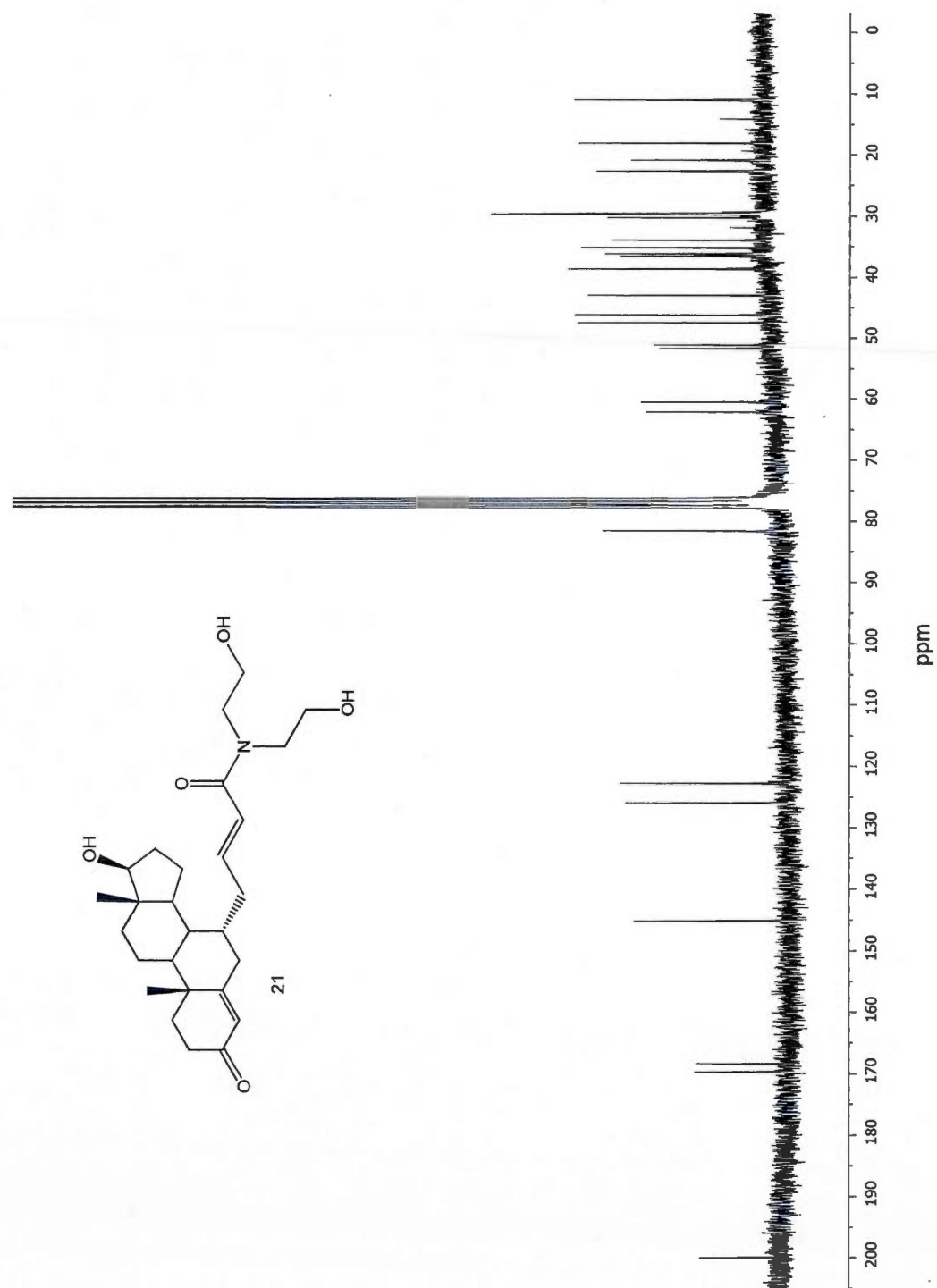


Spectre A.23 : RMN- ^{13}C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque (**19**)





Spectre A.25 : RMN- ^{13}C de l'acide trans-4-(4-androstèn-17 β -hydroxy-3-one-7 α -yl)-but-2-énoïque N,N-bis-2-éthanolamide (21)



RÉFÉRENCES

- Armarego, L.F. Wilfred. (1988). « Purification of laboratory chemicals ». 3rd edition. Oxford, (New York): Pergamon Press, 391p.
- Barrett, M. David. (2000). « Les maladies de la prostate ». Clinique Mayo. Ottawa, (Ontario) : Lavoie Broquet inc. 208p.
- Bastien, Dominic. (2008). « Synthèse de nouveaux analogues de la testostérone pour le traitement du cancer de la prostate ». Mémoire de maîtrise, Trois-Rivières, Université du Québec à Montréal, 110p.
- Bohl, C. E., Gao, W., Miller, D. D., Bell, C. E., & Dalton, J. T. (2005). « Structural basis for antagonism and resistance of bicalutamide in prostate cancer ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(17), 6201-6206.
- Denis, L. J., & Griffiths, K. (2000). « Endocrine treatment in prostate cancer ». *Seminars in surgical oncology*, 18(1), 52-74.
- Descôteaux, C., Provencher-Mandeville, J., Mathieu, I., Perron, V., Mandal, S. K., Asselin, É., & Bérubé, G. (2003). « Synthesis of 17 β -estradiol platinum(II) complexes: biological evaluation on breast cancer cell lines ». *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 13, 3927-3931.
- Descôteaux, Caroline. (2006). « Synthèse améliorée de molécules hybrides estradiol-Pt(II) pour le traitement des cancers féminins hormono-dépendants. Étude de l'influence de la longueur de la chaîne alkyle sur l'activité biologique ». Mémoire de maîtrise, Trois-Rivières, Université du Québec à Montréal, 127p.
- Descôteaux, C., Leblanc, V., Bélanger, G., Parent, S., Asselin, É., & Bérubé, G. (2008). « Improved synthesis of unique estradiol-linked platinum(II) complexes showing potent cytotoxic activity and affinity for the estrogen receptor alpha and beta ». *Steroids*, 73, 1077-1089.

- Fortin, S., Moreau, E., Lacroix, J., Côté, M.-F., Petitclerc, E., & C-Gaudreault, R. (2010). « Synthesis, antiproliferative activity evaluation and structure-activity relationships of novel aromatic urea and amide analogues of N-phenyl-N'-(2-chloroethyl) ureas ». *European journal of medicinal chemistry*, 45(7), 2928-2937.
- Gao, W., Bohl, C. E., & Dalton, J. T. (2005). « Chemistry and structural biology of androgen receptor ». *Chemical reviews*, 105(9), 3352-3370.
- Gao, W., Kim, J., & Dalton, J. T. (2006). « Pharmacokinetics and pharmacodynamics of nonsteroidal androgen receptor ligands ». *Pharmaceutical research*, 23(8), 1641-1658.
- Gniazdowski, M., & Cera, C. (1996). « The Effects of DNA Covalent Adducts on in Vitro Transcription ». *Chemical reviews*, 96(2), 619-634.
- Graham, L. Patrick. (2005). « Introduction to medicinal chemistry ». New York. Third edition. Oxford University Press inc. 768p.
- Grossmann, M. E., Huang, H., & Tindall, D. J. (2001). « Androgen receptor signaling in androgen-refractory prostate cancer ». *Journal of the National Cancer Institute*, 93(22), 1687-1697.
- Gulta, A., Saha, P., Descôteaux, C., Leblanc, V., Asselin, É., & Bérubé, G. (2010). « Synthesis and biological evaluation of estradiol-chlorambucil hybrids as anticancer agents ». *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 20, 1614-1618.
- Haendler, B., & Cleve, A. (2012). « Recent developments in antiandrogens and selective androgen receptor modulators ». *Molecular and cellular endocrinology*, 352, 79-91.
- Kirk, D., & Tony S. (2007). « Comprendre la prostate ». Montréal (Québec) : Les publications Modus Vivendi inc. 128p.
- Kleinsmith, J. Lewis. (2006). « Principles of Cancer Biology ». San Francisco. Pearson Benjamin Cummings. 352p.
- Marder, O., & Albericio, F. (2003). « Industrial Application of Coupling Reagents in Peptides ». *ChemInform*, 35(24), 6-11.

- Mohler, M. L., Bohl, C. E., Jones, A., Coss, C. C., Narayanan, R., He, Y., Hwang, D. J., Dalton, T., J., & Miller, D. D. (2009). « Nonsteroidal selective androgen receptor modulators (SARMs): Dissociating the anabolic and androgenic activities of the androgen receptor for therapeutic benefit ». *Journal of medicinal chemistry*, 52(12), 3597-3617.
- Mosmann, T. (1983). « Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays ». *Journal of immunological methods*, 65(1-2), 55-63.
- Neumann, F., & Töpert, M. (1986). « Pharmacology of antiandrogens ». *Journal of steroid biochemistry*, 25(5B), 885-895.
- Pentyala, S. N., Lee, J., Hsieh, K., Waltzer, W. C., Trocchia, A., Musacchia, L., Rebecchi, M. J. & Khan, S. A. (2000). « Prostate cancer: a comprehensive review. *Medical oncology* ». (Northwood, London, England), 17(2), 85-105.
- Perron, V., Rabouin D., Asselin, É., Parent, S., Gaudreault-C., R., & Bérubé, G. (2005). « Synthesis of 17beta-estradiol-linked platinum(II) complexes and their cytotoxic activity on estrogen-dependent and -independent breast tumor cells ». *Bioorganic Chemistry*, 33(1), 1-15.
- Provencher-Mandeville, Josée. (2007). « Synthèse et activité biologique d'une série de dérivés estradiol-platine(II) comportant une chaîne polyéthylène glycol ». Mémoire de maîtrise, Trois-Rivières, Université du Québec à Montréal, 100p.
- Provencher-Mandeville, J., Debnath, C., Mandal, S. K., Leblanc, V., Parent, S., Asselin, É., & Bérubé, G. (2011). « Design, synthesis and biological evaluation of estradiol-PEG-linked platinum(II) hydrid molecules; comparative molecular modeling study of three distinct families of hybrids ». *Steroids*, 76, 94-103.
- Ralhan, R., & Kaur, J. (2007). « Alkylating agents and cancer therapy ». *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 17(9), 1061-1075.
- Ruddon, W. Raymond. (2007). « Cancer biology ». Oxford (New York): Fouth edition. Oxford University Press. 568p.
- Saad, Fred. Michael McCormack. (2008). « Comprendre le cancer de la prostate ». Montréal (Québec) : Nouvelle édition. Les éditions de la santé. 178p.

Site Web du cancer de la prostate Canada : <http://www.prostatecancer.ca/Prostate-Cancer/About-the-Prostate>

Site Web Société Canadienne du cancer : <http://www.cancer.ca>

Site Web National Comprehensive Cancer Network : <http://www.nccn.com>

Still Clark, W. Kahn, M. & Mitra, A. (1978). « Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution ». *The Journal of organic chemistry*, 43(14), 2923-2925.

Van Themsche, C., Parent, S., Leblanc, V., Descôteaux, C., Simard, A.-M., Bérubé, G., & Asselin, E. (2009). « VP-128, a novel oestradiol-platinum(II) hybrid with selective anti-tumour activity towards hormone-dependent breast cancer cells in vivo ». *Endocrine-related cancer*, 16(4), 1185-1195.

Veldscholte, J., Berrevoets, C. A., Brinkmann, A., O., Grootegoed, J. A., & Mulder, E. (1992). « Anti-androgens and the mutated androgen receptor of LNCaP cells: differential effects on binding affinity, heat-shock protein interaction, and transcription activation ». *Biochemistry*, 31(8), 2393-2399.

Weagle, G., Gupta, A., Bérubé, G., & Chapados, C. (2010). « Evaluation of in vivo biological activities of tetrapyrrole ethanolamides as novel anticancer agents ». *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 100(1), 44-50.

Wirth, M. P., Hakenberg, O. W., & Froehner, M. (2007). « Optimal treatment of locally advanced prostate cancer ». *World journal of urology*, 25(2), 169-176.

Wirth, M. P., Hakenberg, O. W., & Froehner, M. (2007). « Antiandrogens in the treatment of prostate cancer ». *European urology*, 51(2), 306-314.

Zerbib, M., & Perez M. (1998). *La prostate tout ce qu'il faut savoir*. Paris. Éditions SOLAR. 231p.